



Universidad de Oriente
Vicerrectorado Académico
Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas
Departamento de Biomedicina

IMPACTO DE ATORVASTATINA SOBRE LA HISTOLOGÍA DEL
INTESTINO, EL HÍGADO Y LA MICROBIOTA INTESTINAL EN *Rattus*
norvegicus SPRAGUE DAWLEY
(Modalidad Investigación)

Dra. Lorena Abadía-Patiño

TRABAJO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA ASCENDER A
LA CATEGORÍA DE PROFESOR TITULAR

CUMANÁ, JUNIO DE 2022

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
I. Estatinas.....	1
I.1 Generalidades.....	1
I.2 Mecanismo de acción de las estatinas.....	3
I.3 Efecto antimicrobiano.....	5
I.4 Lípidos	6
I.5 Intestino	11
OBJETIVOS	27
METODOLOGÍA.....	28
VII.1 Muestra:	28
VII.2 Eficiencia del porcentaje de asimilación de materia orgánica:	28
VII. 3 Análisis histológico:.....	29
VII.4 Verificación del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> y <i>Enterococcus</i> de los hisopados rectales:.....	30
VII.5 Tratamiento estadístico:.....	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
VIII.1 Evaluación de la histología del intestino (duodeno, yeyuno, íleon y colon):	32
VIII.2 Cambios estructurales en la histología del hígado de <i>Rattus norvegicus</i> Sprague Dawley:	53
VIII.3 Eficiencia de asimilación de materia orgánica en las ratas:	65
VIII.4 Colonización intestinal de <i>Escherichia coli</i> y <i>Enterococcus</i> :	77
CONCLUSIÓN.....	93
RECOMENDACIÓN	94
BIBLIOGRAFÍA.....	96
Hoja de Metadatos	141

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características histológicas de muestras intestinales analizadas de especímenes de <i>Rattus norvegicus</i> Sprague Dawley controles.....	43
Tabla 2. Características histológicas de muestras intestinales analizadas de especímenes de <i>Rattus norvegicus</i> Sprague Dawley tratadas con atorvastatina durante seis meses.....	45
Tabla 3. Características histológicas de las muestras hepáticas analizadas en especímenes de <i>Rattus norvegicus</i> Sprague Dawley en ratas controles y tratadas con atorvastatina durante seis meses.....	59
Tabla 4. Número de hepatocitos binucleares en los especímenes de <i>Rattus norvegicus</i> Sprague Dawley en ratas controles y tratadas con atorvastatina durante seis meses	60
Tabla 5. Número de células de Kupffer en los especímenes de <i>Rattus norvegicus</i> Sprague Dawley en ratas controles y tratadas con atorvastatina durante seis meses	64
Tabla 6. Comparación del porcentaje de asimilación de especies de <i>Rattus norvegicus</i> Sprague Dawley machos sin y bajo tratamiento con atorvastatina durante seis meses	67
Tabla 7. Valor teórico del volumen de bacterias en la masa fecal de las ratas controles y con tratamiento de atorvastatina durante seis meses	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cortes del intestino delgado a nivel del duodeno del grupo control.....	33
Figura 2. Cortes del intestino delgado a nivel del duodeno del grupo atorvastatina.....	34
Figura 3. Cortes del intestino delgado a nivel del yeyuno del grupo control.....	36
Figura 4. Cortes del intestino delgado a nivel del yeyuno del grupo atorvastatina.....	38
Figura 5. Cortes del intestino delgado a nivel del íleon del grupo control.....	40
Figura 6. Cortes del intestino delgado a nivel del íleon del grupo atorvastatina.....	41
Figura 7. Cortes del intestino grueso a nivel del colon descendente del grupo control.....	42
Figura 8. Cortes del intestino grueso a nivel del colon descendente del grupo atorvastatina.....	44
Figura 9. Índice de actividad histológica de las muestras del intestino de ratas tratadas con atorvastatina.....	46

Figura 10. Micrografía del hígado de ratas del grupo control.....	55
Figura 11. Micrografía del hígado de ratas del grupo atorvastatina.....	56
Figura 12. Proporción de UFC de <i>Escherichia coli</i> en los cuadrantes de las placas de Petri, provenientes del intestino de las ratas.....	78
Figura 13. Proporción de UFC de <i>Enterococcus</i> spp., en los cuadrantes de las placas de Petri, provenientes del intestino de las ratas.....	81

RESUMEN

Introducción: El uso de atorvastatina está ampliamente extendido en la población adulta con trastornos de dislipidemia. Recientemente, se conoció que las estatinas, tienen actividad antibacteriana. Por esta razón, se estudió el efecto de atorvastatina sobre el intestino (hábitat de la microbiota intestinal) y el hígado, centro de la síntesis de los lípidos. Metodología: Se hizo un estudio experimental *in vivo* con un grupo control y uno con atorvastatina durante seis meses, en ratas machos adultos Sprague Dawley. Todos los especímenes recibían la misma cantidad y el mismo tipo de alimento por jaula. Se tomaron hisopados rectales a todas las ratas, al inicio del estudio y cada mes, hasta el sexto mes. Los hisopos fueron sembrados en agar EMB, para aislar cepas de *Escherichia coli* y en agar BHI, suplementado con gentamicina y 6.5% de NaCl para aislar cepas de *Enterococcus* spp. Al sexto mes del estudio, las ratas fueron sacrificadas, para obtener los intestinos e hígados, para su preparación en bloques de resina epóxica y posterior estudio histológico al microscopio óptico. El porcentaje de asimilación se realizó pesando los alimentos y la materia fecal de las ratas. Luego, todas las muestras fueron secadas e incineradas. Los resultados fueron recolectados en un documento Excell. Resultados: La atorvastatina administrada durante seis meses a las ratas Sprague Dawley, provocó daños estructurales en el intestino (duodeno, yeyuno, íleon y colon), variando de moderado a severo, dependiendo del tramo del intestino, así como, en el hígado, con respecto a las ratas controles. Los infiltrados linfocitarios demostraron procesos inflamatorios crónicos en el intestino. En los cortes histológicos de los hígados de las ratas tratadas con atorvastatina, se observaron cúmulos de color oscuro, correspondientes a mitocondrias extracelulares por la necrosis total de hepatocitos, además de sinusoides hepáticos edematizados y presencia de abundantes células de Kupffer. Después de la administración de atorvastatina, las ratas tuvieron un promedio de 142,4 hepatocitos binucleados, mientras que las ratas controles tenían 25,4. La diferencia de las varianzas, al igual que la diferencia de medias (por la prueba T de Student) provenientes del grupo de ratas control versus el grupo de ratas que recibió atorvastatina es significativa ($p=0.033$ y $p=0.000$, respectivamente), por lo que se infiere, que, las diferencias observadas sobre los hepatocitos binucleares, no parece ser debida al azar. El mismo comportamiento estadístico fue observado con el incremento de las células de Kupffer en las ratas bajo tratamiento. Con respecto a las heces de las ratas, aquellas provenientes de los controles, eran más voluminosas (91.21 mg), que las de las ratas tratadas con atorvastatina (33.45 mg). El porcentaje de asimilación varió en las ratas controles (87%) con respecto a las que estaban bajo tratamiento con atorvastatina (54%). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con el porcentaje de asimilación.

La cantidad de bacterias presentes en las ratas tratadas con atorvastatina, fue menor que en las ratas controles. No se observaron diferencias significativas. En las ratas bajo tratamiento con atorvastatina, se observó crecimiento de *E. coli* en los cuatro cuadrantes de la placa el primer mes, pero en menor cantidad al observado en las ratas controles. A partir del segundo mes de tratamiento, el crecimiento bajó a dos cuadrantes y el tamaño de las colonias se redujo. En las ratas tratadas con atorvastatina, se vio una disminución del tamaño de las colonias de *Enterococcus* y el crecimiento fue disminuyendo paulatinamente, con el paso de los meses. Conclusión: El uso prolongado de atorvastatina, creó disbiosis intestinal, al destruir la estructura histológica del intestino, hábitat de la microbiota intestinal.

INTRODUCCIÓN

I. Estatinas.

I.1 Generalidades.

Las estatinas son un grupo de fármacos análogos del ácido mevalónico, las cuales se unen de manera covalente al sitio activo de la β -hidroximetilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA), enzima implicada en la síntesis del ácido mevalónico, precursor metabólico del colesterol, esto ocurre debido a que las estatinas poseen una estructura química parecida a dicha enzima e inhiben en forma competitiva y reversible la HMG-CoA reductasa uniéndose al sitio activo de ésta, lo que bloquea la formación de mevalonato. Se ha descubierto que las estatinas además limitan la actividad funcional alterando la conformación de la enzima, aumentando de esta manera la efectividad de estos fármacos; tanto el colesterol como los isoprenoides permiten que el gen que codifica la producción de la enzima reductasa no se exprese (Huacuja *et al.*, 2006).

Las primeras estatinas descubiertas fueron aisladas de hongos micromicetos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Monascus* y posteriormente se encontró que también son biosintetizados por macromicetos del género *Pleurotus*. Dentro de esta familia de fármacos se encuentran dos grupos, en primer lugar, las de origen natural que son producidas por algunos hongos o por procesos fermentativos como lovastatina, simvastatina, pravastatina y mevastatina; en segundo lugar, las sintéticas producidas por el hombre a través de la ingeniería molecular como fluvastatina, atorvastatina, cerivastatina, rosuvastatina y pitavastatina. En cuanto a su estructura, existen dos grupos. En el tipo I se encuentran todas

las estatinas naturales las cuales poseen una mayor porción policétida que las del tipo II; además presentan en común el anillo hexahidronaftaleno funcionalizado con un éster α -metilbutírico y una β -hidroxi- δ -lactona enlazada por un puente etilénico, pero difieren las unas de las otras por la posición de los metilos sobre el anillo y la cadena lateral. Las estatinas tipo II surgen por la necesidad de obtener medicamentos con una acción farmacológica potenciada, en comparación con las estatinas naturales, ya que son moléculas grandes que tienen en común una cadena lateral fluorofenil, un grupo metiletil y un ácido heptenoico (Nieto *et al.*, 2013). *Penicillium citrinum* es un hongo que produce lovastatina. Pravastatina y simvastatin son formas semi sintéticas derivadas de lovastatina. Atorvastatina es una forma pura sintética (Hoffman *et al.* 1986).

Aunque inicialmente las estatinas se introdujeron como fármacos para disminuir la lipoproteína de baja densidad (LDL) y aumentar levemente la lipoproteína de alta densidad (HDL), en el tratamiento de las dislipidemias y en la prevención de las enfermedades cardiovasculares (Ramos-Esquivel and León-Céspedes, 2007), recientemente ha surgido nuevas evidencias sobre sus mecanismos de acción, éstas poseen múltiples actividades ateroprotectoras independientes de lípidos, tales como: mejorar la disfunción endotelial, inhibir la inflamación vascular y la trombosis, así como disminuir el estrés oxidativo. Estas acciones se conocen como “efectos pleiotrópicos” de las estatinas, por lo tanto, los efectos beneficiosos de estos fármacos no sólo se observan en pacientes hiperlipidémicos, sino también en normolipidémicos (Mennickent *et al.*, 2008). Esta característica farmacodinámica ha llamado la atención de muchos investigadores quienes sugieren su uso en diferentes enfermedades que se centran en la inflamación, en desórdenes de la inmunidad y en la proliferación celular (Ramos-Esquivel y León-Céspedes, 2007).

I.2 Mecanismo de acción de las estatinas

Las estatinas inhiben la HMG-CoA-reductasa alterando la síntesis de colesterol, principalmente LDL (Mendoza, 2008). El efecto de esta inhibición, es el aumento exagerado de la expresión de genes que codifican dicha enzima en el hígado. Por otro lado, el bajo nivel de colesterol circulante, hace que se activen en los hepatocitos, los factores de transcripción SREBP, los cuales estimulan la síntesis de receptores para LDL, aumentando la captación, no solo de LDL, sino además de VLDL, esto trae como consecuencia, la disminución plasmática de estas lipoproteínas. En teoría, este mecanismo, proporciona a las células del hospedero, el colesterol necesario, para sintetizar membranas celulares, hormonas esteroideas y ácidos biliares (Hirota and Ieiri, 2015).

Las estatinas son dosis-dependiente para lograr la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol total, LDL-colesterol y triglicéridos, así como del leve aumento de HDL-colesterol. La disminución del LDL-colesterol alcanza su pico máximo, al cado de 2 semanas de tratamiento. Atorvastatina es la más eficaz para reducir los niveles de LDL-colesterol. Mientras que, pravastatina y fluvastatina son menos eficaces que, simvastatina y lovastatina. Rosuvastatina y atorvastatina producen mayor reducción de los niveles plasmáticos de triglicéridos y mayor aumento de los niveles de HDL-colesterol que otras estatinas (Bellosa and Corsini, 2012).

Atorvastatina, lovastatina y simvastatina son prodrogas, por lo que deben ser biotransformadas en el hígado para que sean activas; este proceso ocurre a través de la isoforma CYP3A4 del citocromo P-450. Fluvastatina se metaboliza vía CYP2C9. Pravastatina sufre procesos de

oxidación y sulfoconjugación en el hígado, sin emplear la vía del CYP450 (Hirota and Ieiri, 2015).

Aproximadamente, la semivida plasmática de atorvastatina es de 14 horas para la prodroga y de 20-30 horas para sus metabolitos activos. El resto de las estatinas se ubica de 1-3 horas. Esto podría explicar la mayor eficacia hipolipemiente de atorvastatina frente a las demás estatinas del mercado. Los metabolitos de las estatinas se eliminan vía biliar y, en menor medida, renal. En pacientes con hepatopatías, se ven aumentados los niveles plasmáticos. En pacientes con insuficiencia renal, disminuye la eliminación de lovastatina y simvastatina (Hirota and Ieiri, 2015).

Actuales estudios epidemiológicos sobre estatinas han sugerido una relación entre el tratamiento con las mismas y una disminución del riesgo de sepsis en pacientes con aterosclerosis. Se ha propuesto que el mecanismo que subyace a esta aparente protección se refiere a los efectos inmunomodulador y antiinflamatorio (Jerwood and Cohen, 2008). Además, estudios en animales, sugieren que la administración de estatinas antes de una sepsis inducida reduce la morbilidad y mejora la supervivencia; datos limitados en humanos, apuntan a la reducción de mortalidad en pacientes con bacteriemia y un menor riesgo de sepsis en pacientes con infecciones bacterianas simultáneas cuando toman estatinas (Chegwin-Angarita *et al.*, 2012).

Algunas investigaciones han demostrado un potencial antimicrobiano para las estatinas contra diferentes especies bacterianas (Graziano *et al.*, 2015). Se ha reportado que estos fármacos son capaces de inhibir la invasión de células hospedero por *Staphylococcus aureus*, así como la eliminación de este patógeno por las células fagocíticas. Por otra parte, en un

ratón de experimentación se demostró que las estatinas protegen contra infecciones neumocócicas. Sin embargo, todos los experimentos *in vitro* mencionados anteriormente han sido realizados usando concentraciones de estatinas entre 0,1 a 50 μM , la cual excede en gran medida las concentraciones presentes en la sangre humana durante el tratamiento con estatinas (1-15 nmol/L) (Bergman *et al.*, 2011).

Al comparar entonces el efecto antimicrobiano de un grupo de estatinas, se encontró que dicho efecto es elevado con simvastatina y atorvastatina en comparación con rosuvastatina; por otra parte atorvastatina es superior a simvastatina contra enterococos vancomicina susceptibles y enterococos vancomicina resistentes aislados clínicamente; lo que permite plantear que el posible poder antimicrobiano se debe a la estructura química de cada uno de los integrantes de esta familia de fármacos (Masadeh *et al.*, 2012).

1.3 Efecto antimicrobiano.

Varias publicaciones médicas han reportado el beneficio para prevenir las infecciones y controlar la tasa de morbilidad y/o mortalidad de las mismas con el uso de estatinas (Almog *et al.*, 2004; Bjorkhem-Bergman *et al.*, 2010; Khan *et al.*, 2013; Kozarov *et al.*, 2014; Janda *et al.*, 2010; Thomsen *et al.* 2006). Está descrito que atorvastatina, simvastatina, rosuvastatina, tienen efecto sobre algunas bacterias (Horn *et al.*, 2008; López-Cortes *et al.*, 2013). Simvastatin inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (Jerwood and Cohen, 2008) y la invasión celular (Horn *et al.*, 2008; Welsh *et al.*, 2009). La cepa *S. aureus* ATCC 29213 tiene una concentración mínima inhibitoria (CMI) a simvastatina de 16.65 $\mu\text{g/ml}$ y se obtuvo un efecto bactericida con 4 veces la CMI y solo bacteriostática con la CMI. No se logró un efecto

sinérgico añadiendo vancomicina a la terapia con simvastatina. Sin embargo, se impidió la adhesión y formación de la biopelícula por la cepa ATCC 29213 a una concentración de 1/16 CMI a 4 veces la CMI. En la práctica, desestabilizar una biopelícula por un antibiótico es muy difícil, no obstante, simvastatina lo hizo, reduciendo la viabilidad celular y la producción de extra polisacáridos integrantes de la matriz (Graziano *et al.*, 2015).

Simvastatina y atorvastatina son sustancias lipofílicas, mientras que pravastatina es hidrofílica (Mason *et al.*, 2005). Es probable que, debido a estas características, simvastatina pueda atravesar fácilmente la membrana celular de las células bacterianas, inhibiendo el crecimiento de manera dosis dependiente. Atorvastatina es un metabolito no aislado de hongos, y no posee una actividad antimicrobiana significativa (Jerwood and Cohen, 2008; Masadeh *et al.*, 2012).

Simvastatina tiene una fuerte actividad antimicrobiana sobre *S. aureus*; inhibe el crecimiento de esta bacteria incluso por debajo de la CMI (Graziano *et al.*, 2015). La CMI de simvastatina frente a *Streptococcus pneumoniae* es 15.6 µg/mL. Simvastatina y pravastatina tienen un fuerte efecto inhibitorio contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. faecalis* (Graziano *et al.*, 2015; Masadeh *et al.*, 2012). Los diferentes grados de efectividad de las estatinas sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas, pueden estar relacionados con las características químicas propias de cada molécula (Jerwood and Cohen, 2008; Masadeh *et al.*, 2012).

I.4 Lípidos

El colesterol se sintetiza en el hepatocito, a través de reacciones de condensación, reducción e hidroxilación, a partir de acetil-CoA (Brown and

Goldstein, 1978). La reacción clave del colesterol, es la conversión de HMG-CoA a mevalonato, catalizada por la enzima HMG-CoA reductasa (Ramírez *et al.*, 1978). En diferentes tejidos mamíferos, se ha encontrado actividad reductasa, sin embargo, el hígado e intestino, son los que concentran la mayor cantidad de esta enzima, de forma que de 2/3 a 3/4 partes del colesterol total del organismo se sintetizan en estos sitios (Kenelly and Rodwell, 1985). La HMG-CoA reductasa, presenta una actividad circadiana, alcanzando una máxima concentración nocturna, tanto en ratas (Shapiro and Rodwell, 1971), como en pollos (Ramírez *et al.*, 1982).

La variabilidad hormonal de la insulina, glucagón, corticoides, prolactina y T3, entre otras hormonas, afecta la síntesis de colesterol, así como el tipo de alimentación. La composición lipídica de las membranas microsomales (Mitropoulos, *et al.*, 1978), las proteínas citosólicas transportadoras de lípidos (Ramírez *et al.*, 1978) y, las sales biliares, modulan la actividad reductasa (Sabine and James, 1978).

Durante el período nocturno, la cicloheximida, un inhibidor de la síntesis de proteínas, controla la actividad reductasa (Shapiro and Rodwell, 1971). Las lipoproteínas (VLDL, LDL y HDL), son una fuente de colesterol para los hepatocitos. En las ratas, HDL es la lipoproteína que transporta la mayor parte del colesterol en el plasma sanguíneo, mientras que, en el hombre, es la LDL. El colesterol es transportado en el interior de las lipoproteínas de dos formas; el colesterol libre se une a los fosfolípidos y proteínas en la superficie de las lipoproteínas y el colesterol y los triglicéridos, conforman una matriz hidrofóbica dentro de las lipoproteínas (Packard and Shepferd, 1982). El colesterol transportado por las LDL es captado por el hepatocito, por la interacción de LDL con los receptores específicos de membrana de alta

afinidad. Cuando el hepatocito no necesita colesterol se inhiben los receptores de LDL (Gill, 1985).

La concentración de colesterol, se regula en los hepatocitos, y depende del equilibrio entre el colesterol transportado por las lipoproteínas plasmáticas, la síntesis *de novo* de colesterol en el hepatocito, el uso de colesterol para formar lipoproteínas y bilis. Por otro lado, el colesterol es almacenado en las células en forma de éster o pasa a formar parte de las membranas celulares como colesterol libre (Molina *et al.*, 1991).

La enzima microsomal ACAT (acil-CoA-colesterol aciltransferasa), permite que el colesterol sea almacenado en las células como éster de ácidos grasos de cadena larga. Su substrato es el colesterol de la membrana microsomal y tiene alta afinidad por los ácidos grasos oleico y palmítico (Balasubramaniam *et al.*, 1976). Esta enzima ACAT está regulada por un mecanismo de fosforilación/defosforilación; cuando la HMG-CoA reductasa se inactiva por fosforilación, la ACAT se inactiva por defosforilación (Shefer *et al.*, 1981). En el hígado, se realiza, la síntesis de esteres de colesterol, la cual va a depender, de la biodisponibilidad de colesterol celular (Jones and Glomset, 1985). Cuando hay una alteración de la relación fosfolípidos/colesterol de las membranas biológicas ocurren trastornos en la fluidez de las membranas celulares (Spector and Yorek, 1985).

Los ácidos grasos de cadenas cortas son los principales productos derivados de la fermentación de hidratos de carbono o carbohidratos no digeribles, que se encuentran en el intestino delgado. Las bacterias anaeróbicas del colon proximal y del ciego son las que se encargan de degradarlos en el colon. Los ácidos grasos de cadenas cortas regulan la homeostasis inmune intestinal, proporcionando una rica fuente de energía al

hospedero (Macfarlane and Macfarlane, 2012) e influyen en el metabolismo de los lípidos (den Besten, 2013). Los ácidos grasos son importantes para regular el balance entre la síntesis y oxidación de ácidos grasos y la lipólisis en los tejidos a través de los receptores activados por los proliferadores de peroxisoma (PPAR) (Canfora *et al.*, 2015).

El balance de la energía está mediado por vía del receptor del ligando de interacción de los ácidos grasos de cadenas cortas acoplados a la proteína G (GPCR) llamados GPR41 (Brown *et al.*, 2003) y GPR43 (Kimura *et al.*, 2013). La hormona intestinal péptido YY (PYY) y la proteína parecida al glucagón (GLP-1) también están involucradas (Batterham *et al.*, 2002).

I.4.1 Lípidos y microbiota

Durante el paso de los alimentos en el colon, los microorganismos coproducen enzimas, hormonas, vitaminas, ácidos grasos de cadenas cortas, ácidos biliares, ácidos linoleicos conjugados, entre otros, que son esenciales en diferentes vías de la microbiota y del hospedero, incluyendo el metabolismo de los lípidos (Allayee and Hazen, 2015). Un mecanismo por el cual la microbiota interfiere en el metabolismo de los lípidos es la fermentación de hidratos de carbono no digeribles. El cuerpo humano no tiene la capacidad de digerir hidratos de carbono complejos; bacterias anaeróbicas pueden fermentar pectinas, gomas, hemicelulosas, galactosaoligosacáridos (Macfarlane and Macfarlane, 2012).

En el duodeno y yeyuno, se lleva a cabo la digestión y absorción de los lípidos, por procesos fisiológicos complejos (Volk and Lacy, 2017). Ratones libres de microorganismos a nivel intestinal, tienen alto contenido lipídico, comparado con ratones con microbiota, lo cual permite colegir, que la

microbiota, es la que regula el metabolismo de los lípidos (Rabot, *et al.*, 2010). En ratones sometidos a una dieta alta en grasa y otros a una dieta baja en grasa, hay una marcada diferencia entre la microbiota de ambos grupos. Ratones sometidos a una dieta alta en grasa, tienen abundancia de *Clostridium* y una baja concentración de *Bifidobacterium* y *Bacteroides*. El perfil genético (microbioma) de esa microbiota está dirigido a una alta capacidad de transportar lípidos y de señalización de colecistoquinina pancreática (Martinez-Guryn, *et al.*, 2018).

En ratones sanos humanizados con una microbiota procedente de ratones con dieta alta en grasa, se mejora la absorción de lípidos (Martinez-Guryn *et al.*, 2018). Se ha demostrado en humanos, que la dieta altera la microbiota colónica en 48 horas, aumentando la presencia de Firmicutes y Proteobacterias (Carmody *et al.*, 2015; David *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2013).

En el intestino delgado, el estado de saturación de grasa y la composición de ácidos grasos, modula la microbiota. La estructura comunitaria microbiana y la fisiología digestiva en el intestino delgado, están regulados por la producción de ácidos biliares primarios, para emulsificar y absorber los lípidos de la dieta, así como las vitaminas solubles en grasa (Friedman *et al.*, 2018; Schneider *et al.*, 2018).

El crecimiento de bacterias Gram positivas de la microbiota intestinal, se ve fuertemente alterado por el estrés oxidativo y el daño del ADN; cuando eso ocurre, hay una amplia gama de efectos fisiológicos en la estructura intestinal (Begley *et al.*, 2005), debido a la activación del receptor hormonal Farnesoid X (FXR), el receptor 5 de ácidos biliares acoplado a la proteína G Takeda (Carr and Reid, 2015). La supresión de los ácidos biliares vía ácidos obeticólicos (ácidos biliares semi-sintéticos y activador de FXR), estimula la

población de bacterias Gram positivas en el intestino delgado (Friedman *et al.*, 2018).

Los ácidos biliares están conjugados en la circulación hepática, a los aminoácidos glicina y taurina; se absorben en el íleo distal; las bacterias que ahí se encuentran, secretan sales biliares hidrolasas, para desconjugar los ácidos biliares primarios y convertirlos en secundarios mediante la 7-adihidroxilación bacteriana (Begley *et al.*, 2005). Los ácidos biliares secundarios son los que permiten la relación entre la microbiota y el hospedero, vía el FXR (Sayin *et al.*, 2013). Los ratones que carecen de microbiota intestinal (GF), poseen exceso de ácidos biliares conjugados (ácido tauro-b-muricólico) (Swann *et al.*, 2011). Microbiotas intestinales carentes de *Lactobacillus* poseen exceso de ácido tauro-b-muricólico, por la ausencia de sales biliares hidrolasas, producidas por ese grupo de bacterias y el antagonismo de FXR (Li *et al.*, 2013).

Las personas con abundancia de la bacteria sulfito-reductora, *Bilophila wadsworthia*, sufren de procesos intestinales inflamatorios y diarreas, por el aumento de ácidos biliares conjugados a taurina (Devkota *et al.*, 2012). La microbiota del intestino delgado, depende de la capacidad de metabolizar rápidamente los macronutrientes; los metabolitos producidos se integran en una red compleja de interacciones entre microorganismos y el hospedero (Kastl *et al.*, 2020).

I.5 Intestino

El tracto gastrointestinal constituye la principal superficie de intercambio y comunicación entre el medio externo y el medio interno. En el individuo adulto la mucosa gastrointestinal alcanza una superficie de 300 a 400 metros

cuadrados (considerando la superficie total, con las vellosidades desplegadas), y está dotada de estructuras y funciones específicamente adaptadas al reconocimiento analítico y bioquímico de las sustancias que transitan por el tubo digestivo. Como resultado de la actividad del tracto gastrointestinal, el individuo obtiene dos importantes beneficios: nutrición, por la digestión y absorción de nutrientes; y también defensa, por reconocimiento de elementos foráneos y desarrollo de sistemas de prevención y rechazo de posibles agresiones desde el exterior (Guarner, 2007).

El intestino, de aproximadamente 7 metros de largo, está compuesto por dos porciones grandes: el intestino delgado y el intestino grueso. El delgado, está compuesto a su vez, por tres porciones bien diferenciadas que son el duodeno, yeyuno e íleon. Por su alta actividad metabólica, sus células se renuevan cada cinco días. En esta porción se lleva a cabo la digestión, absorción, barrera intestinal y el desarrollo de la inmunidad (Ferrufino *et al.*, 1996). El intestino cumple la función de barrera, porque posee unas proteínas de uniones estrechas, dinámicas, que se adaptan a diversas circunstancias. Cuando la red de proteínas de las uniones estrechas intercelulares, no funciona bien, se produce un aumento de la permeabilidad intestinal, permitiendo el paso hacia el torrente sanguíneo, de sustancias tóxicas, microorganismos y macromoléculas (Fasano, 2011).

El intestino es la mucosa más extensa del cuerpo humano (Fasano, 2011). El duodeno mide unos 25 centímetros de longitud. Va del píloro a la flexura duodenal, en el ligamento de Treitz; de aquí, se desprende el yeyuno, una porción de $\frac{2}{5}$ del intestino delgado; el yeyuno tiene abundantes pliegues circulares y, microvellosidades finas; el íleon, es la porción restante ($\frac{3}{5}$ del intestino delgado), en la cual se encuentran las placas de Peyer o folículos linfoides. El íleon está recubierto por un tejido graso, que le da un

aspecto opaco (Ferrufino, 1996). El duodeno presenta glándulas submucosas o glándulas de Brunner que secretan una mucina; su función es neutralizar el pH ácido del quimo. En el tubo digestivo es característica la presencia de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT). Este tejido linfoide se encuentra en el corion o lámina propia de la mucosa. Es por lo general un tejido linfoide difuso o nodular. Junto a este tejido linfoide hay generalmente plasmocitos (Hall, 2016).

La histología del intestino delgado está constituida por la mucosa, submucosa, muscular y serosa. La digestión comienza en el estómago, pero continúa en el intestino; la absorción depende del contacto del alimento con las paredes intestinales, debido a ello, la longitud del intestino delgado, porque mientras mayor sea la superficie, mayor será la digestión y absorción de los alimentos. A través del intestino delgado, se absorben hidratos de carbono, grasa, aminoácidos, iones y agua (Hall, 2016).

De ahí, las características estructurales del intestino delgado, para cumplir con estas funciones.

1. Pliegues circulares o válvulas de Kerckring, se ubican entre la mucosa y submucosa.

2. Vellosidades intestinales (de 0,5 mm de altura y un núcleo de lámina propia). Las criptas de Lieberkühn son glándulas tubulares; del fondo de ellas, nacen las células Madre. El músculo de Brucke, es el motor de las vellosidades. Es tejido conectivo laxo, con vasos y nervios. Tiene una alta concentración de linfocitos y fibras musculares lisas provenientes de la capa muscular de la mucosa (lámina propia). En las vellosidades, se encuentra un vaso linfático central que es el conducto lacteal o quilífero central. Este conducto tiene un revestimiento discontinuo (Hall, 2016).

3. Microvellosidades del intestino delgado. Los enterocitos cilíndricos, tienen unas prolongaciones de la membrana plasmática que son llamadas microvellosidades; dichas microvellosidades son las que aumentan el contacto con la superficie del medio interno del intestino. Los tramos donde ocurre la absorción, tienen filamentos de actina. Luego hay una capa de glicocálix que favorece mayormente la absorción, aproximadamente 1000 veces (Hall, 2016). El glicocálix es responsable en la finalización del proceso digestivo, de la degradación de los alimentos para su absorción. De los elementos absorbidos, las grasas van al quilífero central, y los demás a la sangre.

Hay cinco tipos de células intestinales.

Enterocitos o células absorbentes: se observan al microscopio óptico con aspecto de ribete en cepillo. La membrana plasmática de estas células presenta en su polo luminal múltiples microvellosidades. Disminuyen en número del duodeno al recto.

Caliciformes o células de Goblet: son células secretoras, responsable de producir mucina; su número aumenta del duodeno al recto.

Endocrinas: son células de los gránulos basales. Pertenecen al sistema neuroendócrino difuso.

Células de Paneth: producen lisozimas (defensivas) para eliminar patógenos.

Células Madre indiferenciadas: son las que renuevan todos los tipos celulares.

Cuando se vislumbran cambios estructurales en la mucosa intestinal, son signos de inflamación, activa o crónica, por lo cual hay que ubicar en el corte histológico, bifurcaciones o ramificaciones criptales. Producto de dichos cambios, se pueden observar fibroblastos pericripticos en la membrana

basal, subepitelial y circundante de las criptas. El epitelio de las criptas, presenta en la base, poca diferenciación de sus células, que va alcanzando madurez para finalmente mostrar una población mixta de células absortivas y caliciformes en más de la mitad superior de la cripta. En la superficie el epitelio es aplanado. No se visualizan neutrófilos, ni eosinófilos intraepiteliales, pero sí cinco linfocitos por 100 células epiteliales. Es posible encontrar un número variable de células neuroendocrinas, y células de Paneth en la base críptica del colon derecho. Eventualmente, puede observarse apoptosis (Colina *et al.*, 2014).

En el íleon las criptas son más cortas, con número muy relevante de células de Paneth, y el epitelio maduro, es contentivo de células caliciformes y absortivas; reviste vellosidades altas, delgadas y en comparación con las del yeyuno, menos paralelas; presentan escasos linfocitos intraepiteliales y celularidad de la lámina propia, en la cual se visualizan los capilares linfáticos y células musculares lisas. La lámina propia de íleon y del colon alberga una población celular más densa en la capa superficial subepitelial. Es de tipo linfoide y densamente plasmocelular, con eosinófilos. Los folículos linfoides se encuentran habitualmente, distribuidos entre mucosa y submucosa, de forma continua en la capa muscular. El epitelio críptico adyacente está carente de células caliciformes y con linfocitos intraepiteliales (Colina *et al.*, 2014).

Los procesos inflamatorios destruyen la estructura de las criptas y provocan erosiones; sin embargo, la regeneración de las criptas hace que éstas, se desarrollen anómalas, bifurcadas, acortadas y/o con densidad heterogénea. Cuando se hacen estudios histológicos, lo primero que se evalúa es la arquitectura; luego, la presencia o no de infiltrado inflamatorio. Cuando se observan lesiones en la mucosa con objetivo medio, indica una

inflamación crónica de la misma. Distinguir las bifurcaciones criptales, es característico de cronicidad (Seldenrijk *et al.*, 1991).

La biopsia del duodeno es el método “gold standard” para el diagnóstico certero de una enfermedad, en pacientes con diarrea crónica, descenso de peso y anemia por déficit de hierro (Dickey, 2006). La visualización de signos característicos de atrofia vellositaria, en muestras del duodeno distal, no son patognomónicos de Enfermedad Celíaca o EC (Bai *et al.*, 2008).

Los estados de atrofia, que no son otra cosa que espacios de lámina propia entre las bases de las criptas y la capa muscular, o criptas muy cortas, indican cambios estructurales importantes. La superficie luminal de cada resto de vellosidad, puede perder la silueta regular, cuando se combinan la alteración arquitectural y la actividad inflamatoria intensa. La erosión, es la ausencia de un área de la mucosa en la superficie, mientras que la úlcera, es la distorsión de continuidad de la superficie, comprometiendo la mucosa y la submucosa intestinal (Colina *et al.*, 2014).

Sería interesante establecer el mecanismo de atrofia de las vellosidades del intestino delgado en las ratas tratadas con atorvastatina, ya que en pacientes con EC está descrito que es por inmunidad adaptativa (Sollid, 2002). El gluten es digerido al péptido gliadina; este péptido, induce cambios en el epitelio y, en la lámina propia aumento de la expresión de interleukina 15 (IL-15), la cual activa a los linfocitos intraepiteliales. Estos linfocitos son citotóxicos para los enterocitos (Mention *et al.*, 2003).

La gliadina es deaminada por la transglutaminasa tisular, en la lámina propia del intestino. *In situ*, ocurre una interacción en la superficie de las células presentadoras de antígenos, con las moléculas HLA-DQ2. Los

linfocitos T (CD4+ reactivos), producen daño tisular por la producción de citokinas (Molberg *et al.*, 1998), además de la activación y expansión de los linfocitos B que producen anticuerpos. Es así como se desarrolla la atrofia vellositaria y la hiperplasia de las criptas (Mohamed *et al.*, 2006).

La inflamación puede ser difusa (colitis aguda o activa sin otra especificación), sin diferencias notables en la cantidad de la población de la lámina propia (distribuida uniformemente), o discontinua (focalizada en un segmento). Es importante determinar el tipo y la intensidad del infiltrado inflamatorio; la presencia de neutrófilos siempre, es patológica y son fáciles de reconocer en el intersticio y capilares, penetrando en las criptas o en el epitelio de superficie. Su cantidad gradúa la actividad inflamatoria. La criptitis (infiltración inflamatoria de las glándulas Lieberkühn) tiene un infiltrado difuso (Colina *et al.*, 2014).

La actividad inflamatoria tisular viene dada por el daño del epitelio bien sea por la infiltración de neutrófilos como de eosinófilos en la forma de criptitis, microabscesos crípticos, erosión o ulceración de la mucosa, lo cual trae consigo, cambios epiteliales degenerativos (Carrasco-Avino, 2019).

La actividad inflamatoria se mide empleando el índice de actividad histológica (IAH). Este IAH consistente en una escala visual análoga: inactivo/ausente, a lo cual se le asigna el número 0; leve si el proceso se encuentra en menos del 50% del material evaluado de las criptas y se le asigna el número 1; moderado, cuando las criptas están alteradas en más de 50% y se le asigna el número 2 y acentuado, cuando se evidencian erosiones o úlceras en las criptas, el valor numérico entonces, es 3 (Gupta *et al.*, 2007).

Por convención, cuando se toman varias biopsias de un segmento de colon en particular, se considera el IAH más alto. Lo que se reporta es, el score inflamatorio, que es la sumatoria de todos los IAH de cada sitio o segmento colónico evaluado, dividido por el número de sitios observados. Cuando estos cambios están superpuestos sobre un fondo de colitis crónica, se les llama colitis crónica activa (Odze and Goldblum, 2014).

Es habitual, observar un gradiente aumentado de células plasmáticas desde la superficie hacia la zona basal en la mucosa, tanto del ciego como del colon ascendente (Feakins, 2013). En la mucosa, se habla de lesión, cuando hay hiper-eosinofilia tisular; está, se alcanza cuando existen más de 60 eosinófilos en el segmento, o cuando las criptas, están invadidas por eosinófilos (criptitis eosinofílicas) (Colina *et al.*, 2014). En la criptitis asimétrica, el infiltrado de neutrófilos penetra solo el segmento del perímetro cóptico; esta es una característica representativa de enfermedad intestinal inflamatoria (Volk *et al.*, 1998).

Las acumulaciones de micro abscesos cópticos cargados de células inflamatorias intraluminales, son causas de diarreas. Puede incluso, producirse la rotura de la membrana basal de la cripta, mezclándose el micro absceso luminal con micro-abscesificación intersticial. Los micro abscesos cópticos se constituyen en el interior de las criptas por la acumulación de macrófagos y/o neutrófilos (Colina *et al.*, 2014).

El afta es un agregado linfoide o un folículo anatómico en cuyo vértice luminal se observan neutrófilos que invaden el epitelio o lo erosionan. La fisura histológica continua es recta, estrecha y profunda; hay que hacer el diagnóstico diferencial con la ruptura del tejido durante la manipulación para

su preparación; es una fisura cuando en su borde se observan neutrófilos (Colina *et al.*, 2014).

Los granulomas son grupos histiocitarios, de al menos 5 células claramente epitelioides. Si hay presencia de células gigantes multinucleadas es un verdadero granuloma, porque si la célula gigante está en el fondo de una ulceración o expresa una reacción a cuerpo extraño fecaloideo, no lo es (Colina *et al.*, 2014).

1.5.1 Intestino y microbiota

El término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos reunidos en un nicho ecológico determinado. El ecosistema microbiano del intestino incluye especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal y una serie variable de microorganismos vivos que transitan temporalmente por el tubo digestivo. Las bacterias nativas se adquieren antes del nacimiento y durante el primer año de vida, mientras que las bacterias en tránsito se ingieren continuamente a través de alimentos, bebidas, etc. Los estudios de colonización intestinal controlada han permitido identificar tres funciones primarias de la microbiota intestinal, como son las de nutrición y metabolismo, como resultado de la actividad bioquímica de la microbiota, que incluyen recuperación de energía en forma de ácidos grasos de cadena corta, producción de vitaminas y efectos favorables sobre la absorción de calcio y hierro en el colon; funciones de protección, previniendo la invasión de agentes infecciosos o el sobrecrecimiento de especies residentes con potencial patógeno y funciones tróficas sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal y sobre el desarrollo y modulación del sistema inmune (Guarner, 2007).

La microbiota del intestino delgado, se conoce poco, por lo difícil de la toma de la muestra (Booijink *et al.*, 2007; Cotter, 2011). Conocer la microbiota del intestino delgado es fundamental, porque en el duodeno y yeyuno, se llevan a cabo la asimilación y absorción de nutrientes (Volk y Lacy, 2017). Otra de las limitaciones para conocer el ecosistema de este nicho, es la condición ambiental fluctuante en ese segmento del intestino (Arumugam *et al.*, 2011).

La microbiota intestinal se encuentra colonizando el íleon distal y el colon (ascendente, transverso y descendente), y consiste en aproximadamente 10^{13} microorganismos (Mshvildadze *et al.*, 2010). El metabolismo de la microbiota intestinal representa una parte importante de toda la actividad bioquímica que se desarrolla en el organismo y tiene una gran influencia en el estado nutritivo y de salud del individuo. Dichas funciones no sólo derivan de la acción directa de la microbiota sobre los componentes de la dieta, sino también de su capacidad para inducir genes del hospedero implicados en el metabolismo de nutrientes (Sanz *et al.*, 2004).

El intestino humano es el hábitat natural de una población numerosa, diversa y dinámica de microorganismos, principalmente bacterias, que se han adaptado a la vida en las superficies mucosas o en la luz del intestino (Guarner, 2007). Aunque el muestreo del intestino delgado para la determinación de su microbiota es de difícil acceso (Cotter, 2011) y fácil contaminación (van den Bogert *et al.*, 2013), al comparar el ambiente del intestino delgado con el del colon, el primero se torna hostil para la sobrevivencia de los microorganismos por el corto tiempo de tránsito, la entrega constante de alimentos, así como, la cantidad de enzimas digestivas y bilis que llegan al medio. Este tramo del intestino se caracteriza por una pobre biomasa

microbiana y poco diversa, no obstante, es muy dinámica por las agresiones que recibe (Hayashi *et al.*, 2005).

En el intestino delgado, el duodeno es estéril, en el yeyuno aparecen enterococos, lactobacilos y difteroides, en el íleon se suman algunos miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y anaerobios Gram negativos, en una proporción de aproximadamente 10^5 por gramo de heces. La microbiota va cambiando del segmento proximal al colon de anaerobia facultativa a anaerobia estricta (Thadepalli *et al.*, 1979), en función de la disponibilidad de oxígeno en el medio (Hayashi *et al.*, 2005). Es común encontrar *Bacteroides*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Ahmed *et al.*, 2007).

La principal función de la microbiota del intestino delgado es la fermentación de los hidratos de carbono simples; esto se lleva a cabo por los sistemas de fosfotransferasa, la vía pentosa fosfato, la fermentación de lactato y propionato, la producción de cobalamina y biotina por especies de *Streptococcus* (Zoetendal *et al.*, 2012). En el colon, abundan bacterias como *Veillonella* y *Clostridium* (Zoetendal *et al.*, 2012), con capacidad de degradar hidratos de carbono complejos (Turnbaugh *et al.*, 2010).

En el intestino grueso, la microbiota habitual constituye 50% del peso seco de las heces. Las bacterias anaerobias que se encuentran en mayor proporción son: *Bacteroides*, *Peptococcus*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* y *Lactobacillus*. Las bacterias anaerobias facultativas o aerobias son las siguientes: *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp. y *Staphylococcus*. Esta microbiota se mantiene en equilibrio por diferentes mecanismos tales

como, producción de bacteriocinas y sustancias tóxicas como ácidos grasos, entre otras (Velasco *et al.*, 2008).

La microbiota intestinal lleva a cabo en el intestino delgado distal, la fermentación, en la cual se sintetizan acetato, propionato y butirato, los cuales son ácidos grasos de cadena corta, que vienen a ser la principal fuente energética para los procesos de estimulación del flujo intestinal, proliferación y diferenciación intestinal, así como, en la estructura interepitelial, madurando la eficacia de las uniones estrechas. Otros beneficios de la microbiota incluyen la hidrólisis lipídica, la degradación proteica en péptidos, aminoácidos y la producción de vitaminas (Fustiñana, 2011).

Un desequilibrio en la microbiota intestinal del hombre puede traer como consecuencia numerosas complicaciones, siendo necesario realizar estudios sobre el posible efecto antimicrobiano de las estatinas, ya que representarían un problema a nivel mundial pues son medicamentos que gran parte de la población consume.

1.5.2 Absorción intestinal

En el intestino delgado, la superficie de absorción es de 200 m²; las vellosidades intestinales y la membrana apical de los enterocitos (las microvellosidades), son las que favorecen esta acción. La absorción o asimilación de nutrientes, ocurre, no solo por la integridad funcional del intestino delgado, sino, además, por una adecuada secreción de bilis y una correcta función del páncreas exocrino (Disotuar and García, 2016).

La malabsorción ocurre cuando hay una disminución en la capacidad de captar o transportar los nutrientes en el intestino. Esto puede ocurrir por defectos congénitos en los sistemas de transporte ubicados en las membranas de los enterocitos o por deterioro adquirido en la superficie de absorción del epitelio intestinal. La mala digestión, es otro factor que interfiere con la absorción de nutrientes. Cuando hay dificultad para transformar los alimentos en pequeños productos absorbibles (mono, di, oligosacáridos, aminoácidos, oligopéptidos, ácidos grasos y monoglicéridos) dentro de la luz intestinal o en el borde en cepillo de la membrana apical de las células epiteliales intestinales, se habla de mala digestión (Disotuar and García, 2016).

La absorción intestinal ocurre en tres segmentos del intestino delgado, como son la fase, fase mucosa y fase de transporte.

Fase luminal: en la luz del intestino, se absorben hidratos de carbono, proteínas y grasas, al ser hidrolizados y solubilizados los alimentos con la ayuda de las secreciones pancreática y biliar.

Fase mucosa: en la superficie de la mucosa del intestino, ocurre la hidrólisis final de los alimentos, para que puedan ser captados en forma de sacáridos, péptidos y los lípidos.

Fase de transporte: los nutrientes absorbidos pasan a la circulación sanguínea o linfática, a través de los enterocitos para su procesamiento y almacenamiento. La malabsorción puede ocurrir por defectos en cada una de las tres fases o en varias fases.

Cada componente de los alimentos se adsorbe en un espacio diferente del intestino delgado. Las grasas se absorben en 2/3 del yeyuno proximal hasta el íleon. Aproximadamente, se absorben 500 gr de lípidos al día. En una persona que ingiera 100 gr de alimentos grasos, hallar ≥ 6 gr en heces, indica que hay malabsorción en ese paciente (Riley and Marsh, 1998). La absorción de ácidos grasos es por transporte activo; la proteína FATP4, en la membrana apical del enterocito maduro del intestino delgado es la responsable del transporte (Gertow *et al.*, 2004). Las proteínas, animales o vegetales, son transportadas cuando se degradan a aminoácidos, di y tripéptidos. Existen diferentes tipos de transportadores para los aminoácidos y otros para los di y tripéptidos (Martínez *et al.*, 2005). Los trastornos de malabsorción de proteínas ocurren cuando se reduce la superficie intestinal. Se manifiesta clínicamente, como hipoalbuminemia y malnutrición proteica (Disotuar and García, 2016).

Con respecto a los hidratos de carbono, el enterocito sólo absorbe monosacáridos (glucosa, galactosa y fructosa). La glucosa y galactosa se absorben por transporte activo dependiente de sodio. La proteína transportadora SGLUT1, transporta una molécula de glucosa, una molécula de galactosa y dos moléculas de sodio. El transporte de fructosa se lleva cabo mediante difusión facilitada a través de la proteína transportadora GLUT5. Los hidratos de carbono, atraviesan la membrana basolateral del enterocito por difusión facilitada a través de la proteína transportadora GLUT2. Algunas moléculas lo hacen mediante difusión simple (Marsh and Riley, 1998). No todos los hidratos de carbono potencialmente digeribles se absorben en el intestino delgado. Está documentado, que 20% del almidón de la dieta, así como la fibra, llegan al colon sin digerir, para ser fermentados por la microbiota del colon. Es común observar en pacientes con malabsorción de hidratos de carbono, excesiva fermentación bacteriana, la

cual genera flatulencia, distensión abdominal y heces ácidas (Disotuar and García, 2016).

La concentración plasmática de colesterol depende de tres factores, como son: la síntesis hepática y extra-hepática, además de la absorción intestinal. El factor más importante, y el que realmente regula la síntesis hepática de colesterol, es su concentración dentro del hepatocito. Esto se debe a la razón, colesterol/hidroximetil glutaril CoA reductasa. Cuando disminuye el colesterol intracelular, la respuesta fisiológica inmediata es, aumentar la transcripción de la enzima hidroximetil glutaril CoA reductasa, para que se sintetice más colesterol. El grado de la absorción intestinal o de asimilación, hace variar la concentración de colesterol plasmático; el cual puede oscilar de una persona a otra, de 22 a 72% (Sudhop *et al.*, 2002).

El colesterol, es uno de los componentes de los alimentos, más complejos para absorber, por su insolubilidad en agua. Debe ser emulsificado, formar micelas con los ácidos biliares, para transferirlos al ribete en cepillo de los enterocitos, los cuales los van a transportar al retículo endoplásmico, donde va a ocurrir la esterificación mediante la enzima acil-CoA-colesterolacil-transferasa. Cuando este proceso ha culminado, se incorpora a los quilomicrones y son secretados a la linfa que circunda a los enterocitos. En este paso, los esteroides vegetales, se eliminan en la luz intestinal (Bays and Stein, 2003). El proceso de absorción intestinal del colesterol, es saturable, selectivo y variable, dependiendo de la especie. El transportador ABC-1 (*ATP Binding Casette 1*), es el que se encarga de ello. Está regulado por receptores hormonales heterodímeros en el núcleo, que, a su vez, controlan también el metabolismo del colesterol celular, la síntesis de ácidos biliares y la homeostasis (Repa *et al.*, 2000).

Las estatinas han demostrado ser eficaces en reducir el riesgo de accidentes cerebrovasculares, vasculopatías periféricas y otras patologías, tanto en pacientes con cifras elevadas de colesterol LDL como en aquellos que presentan niveles normales o bajos, pero con riesgo aumentado. A estos medicamentos se les han atribuido diferentes efectos beneficiosos que han constituido un hallazgo valioso para la humanidad, como el posible efecto protector y antimicrobiano.

En esta investigación se propuso determinar el efecto de la estatina, atorvastatina, sobre la estructura del intestino (nicho de la microbiota intestinal) y el hígado.

OBJETIVOS

1. Exponer a ratas machos adultos *Rattus norvegicus* Sprague Dawley con atorvastatina durante seis meses.
2. Estudiar un grupo control de ratas machos adultos *Rattus norvegicus* Sprague Dawley sin administrar atorvastatina.
3. Evaluar la estructura histológica del intestino (duodeno, yeyuno, íleon y colon) e hígado de las ratas sin y bajo tratamiento con atorvastatina.
4. Determinar la eficiencia de asimilación de materia orgánica en las ratas controles y bajo tratamiento.
5. Comparar el crecimiento de *Escherichia coli* y *Enterococcus* en el intestino de las ratas sin y con tratamiento de atorvastatina.

METODOLOGÍA

VII.1 Muestra:

Para el estudio *in vivo* se contó con 11 ejemplares machos de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley, de 8 semanas de edad, los cuales permanecieron cada uno en una jaula en el Bioterio del Instituto de Investigaciones en Biomedicina y Ciencias Aplicadas (IIBCA-UDO) de la Universidad de Oriente. Las ratas fueron divididas en dos grupos, denominados grupo control (n= 5) y grupo experimental (n=6). Ambos grupos tuvieron acceso libre a agua y fueron alimentados por igual con alimento comercial granulado; ciclos de 12 horas luz/12 horas oscuridad, durante 6 meses. A todos los animales se les aplicó un período de adaptación, menor a 15 días; posteriormente se realizaron los ensayos.

VII.2 Eficiencia del porcentaje de asimilación de materia orgánica:

Se tomó una rata control y una rata tratada con atorvastatin durante seis meses; cada rata se puso en jaulas separadas sin aserrín en el fondo. Cada día fueron alimentadas con 20 gr de comida para ratas. Todos los días, se recolectaron las muestras fecales por períodos de 24 horas por tres días consecutivos. Todas las muestras de materia fecal fueron recolectadas en el Bioterio y transportadas al Laboratorio de Resistencia Bacteriana del IIBCAUDO, a temperatura ambiente. Para este experimento, se contó con tres tipos de muestras. El primer tipo de muestra fue el alimento ingerido por las ratas, designado por la letra A (alimento). El segundo tipo de muestra fue una materia fecal de las ratas controles; se designó con las letras HC (heces control). El tercer tipo de muestra fue materia fecal de las ratas experimentales; se designó con las letras HAT (heces atorvastatina).

Se pesaron aproximadamente, 50 mg de todas las muestras en una balanza analítica cuando se recolectaron. Se trituraron en un mortero. Las muestras se secaron por un período de ocho horas a 65°C y se incineraron en una mufla a 450°C durante cuatro horas. Una vez incineradas, se volvieron a pesar todas las muestras. Los pesos de todas las muestras se registraron en un documento Excell. El porcentaje de asimilación se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de asimilación} = \frac{F' - E'}{(1 - E')(F)} \times 100$$

F' representa el peso seco libre de cenizas: relación de peso seco (fracción de materia orgánica) en el alimento ingerido y E' representa la misma proporción en una muestra representativa de heces y alimento. El método se compara favorablemente, como una medida de asimilación, con la medición directa de la cantidad de materia orgánica perdida de los alimentos durante el paso a través del tracto digestivo (Conover, 1966).

VII. 3 Análisis histológico:

Los análisis histológicos de las muestras del intestino (duodeno, yeyuno, íleon y colon) y del hígado fueron realizados de acuerdo a técnicas convencionales de microscopía electrónica (Rojas *et al.* 1997; Bravo *et al.* 2005). Inmediatamente después del sacrificio (inyección de 50 mg/ml de succinilcolina), se procedió a tomar las muestras de hígado e intestino. El procedimiento completo se realizó a una temperatura de 21°C. Cada muestra fue cortada en secciones de 2 mm² aproximadamente, las cuales se colocaron por 2 horas en glutaraldehído al 3% (pH 8.02). Luego, fueron lavadas con amortiguador fosfato (0.1 mol/L; pH 7.4) durante 15 minutos, y

post-fijadas durante 1 hora en tetraóxido de osmio (OsO₄) al 1%. Todas las muestras fueron lavadas con amortiguador fosfato y se deshidrataron con diferentes diluciones de etanoles a concentraciones crecientes desde 50 hasta 100%, durante 5 minutos en cada solución. Para la infiltración, las muestras se colocaron en óxido de propileno por 15 minutos, luego se pusieron en una mezcla de resina epóxica-óxido de propileno (1:1) por 2 horas; posterior a ello en resina epóxica pura, durante 1 hora (Luft, 1961; Rojas *et al*, 2013). Finalmente, la inclusión se hizo colocando las muestras en moldes de silicona con resina epóxica. La polimerización de las muestras se realizó en una estufa a 60°C por 48 horas. Se practicaron cortes semifinos (0.7 µm) con cuchilla de vidrio en un ultra micrótomo Leica UM-UC6. Los cortes se tiñeron con azul de toluidina (1%), y fueron observados en un fotomicroscopio modelo Axioskop FL40 (Carl Zeiss, Germany), con una cámara Cannon incorporada por la captura de las imágenes. Las micrografías fueron procesadas por medio de un software analizador de imágenes Axio Vision LE Cannon Modul (Carl Zeiss, Germany). Los hepatocitos binucleados y las células de Kupffer fueron contados en 100 campos y sumados en su totalidad.

VII.4 Verificación del crecimiento de *Escherichia coli* y *Enterococcus* de los hisopados rectales:

Las ratas fueron hisopadas rectalmente cada mes, durante los seis meses del estudio. Dos hisopos fueron colocados en el medio de transporte Cary Blair, por cada espécimen de rata. Los hisopos fueron procesados el mismo día de la toma, en el Laboratorio de Resistencia Bacteriana del IIBCAUDO. Todos los hisopos de las ratas sin y con tratamiento, fueron sembrados en agar EMB para el crecimiento de *E. coli* a 35°C y en agar BHI al 6.5% NaCl suplementado con gentamicina (16 µg/ml) a 42°C, para el

aislamiento de *Enterococcus*. El crecimiento de las colonias en las placas fue determinado por cuadrantes (primer cuadrante, segundo cuadrante, tercer cuadrante y cuarto cuadrante).

VII.5 Tratamiento estadístico:

Los datos provenientes de este estudio fueron tratados con el programa SPSS26 de IBM Corp.

Para comparar los indicadores del grupo con tratamiento con el grupo control, se usó la prueba estadística T de Student para muestras independientes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VIII.1 Evaluación de la histología del intestino (duodeno, yeyuno, íleon y colon):

Los resultados de este estudio mostraron que la atorvastatina administrada durante seis meses a las ratas Sprague Dawley, provocaron daños estructurales en el intestino y el hígado, con respecto a las ratas controles, las cuales, no recibieron ese medicamento. El duodeno de las ratas controles no presentó alteraciones en su estructura (Figura 1). Todos los miembros del grupo control, mostraron vellosidades intactas, continuas; también se pudo observar, diferentes tipos celulares en las vellosidades (Figura 1A y 1B); en las criptas del duodeno, se visualizó una disposición celular uniforme (Figura 1C); así mismo, se observaron dos arterias, de calibre diverso y se visualizó claramente, la túnica íntima, media y adventicia en ambas (Figura 1D).

En los cortes histológicos del duodeno de las ratas tratadas con atorvastatina (Figura 2), se observó la destrucción parcial de la mucosa (Figura 2A y 2B) comparada con el grupo control. En las criptas de las ratas tratadas con atorvastatina, hubo disminución de su tamaño, baja densidad celular; edema en sus zonas circundantes (Figura 2C) y en la submucosa (Figura 2D). La distorsión estructural criptal del epitelio intestinal, sugiere un proceso de inflamación intestinal crónico. El tejido del duodeno de las ratas tratadas con atorvastatina, perdió una gran proporción de los enterocitos, los cuales son responsables de mantener la integridad de la barrera intestinal (Kagnoff, 2014), convirtiéndolo en permeable (Johansson *et al.*, 2008).

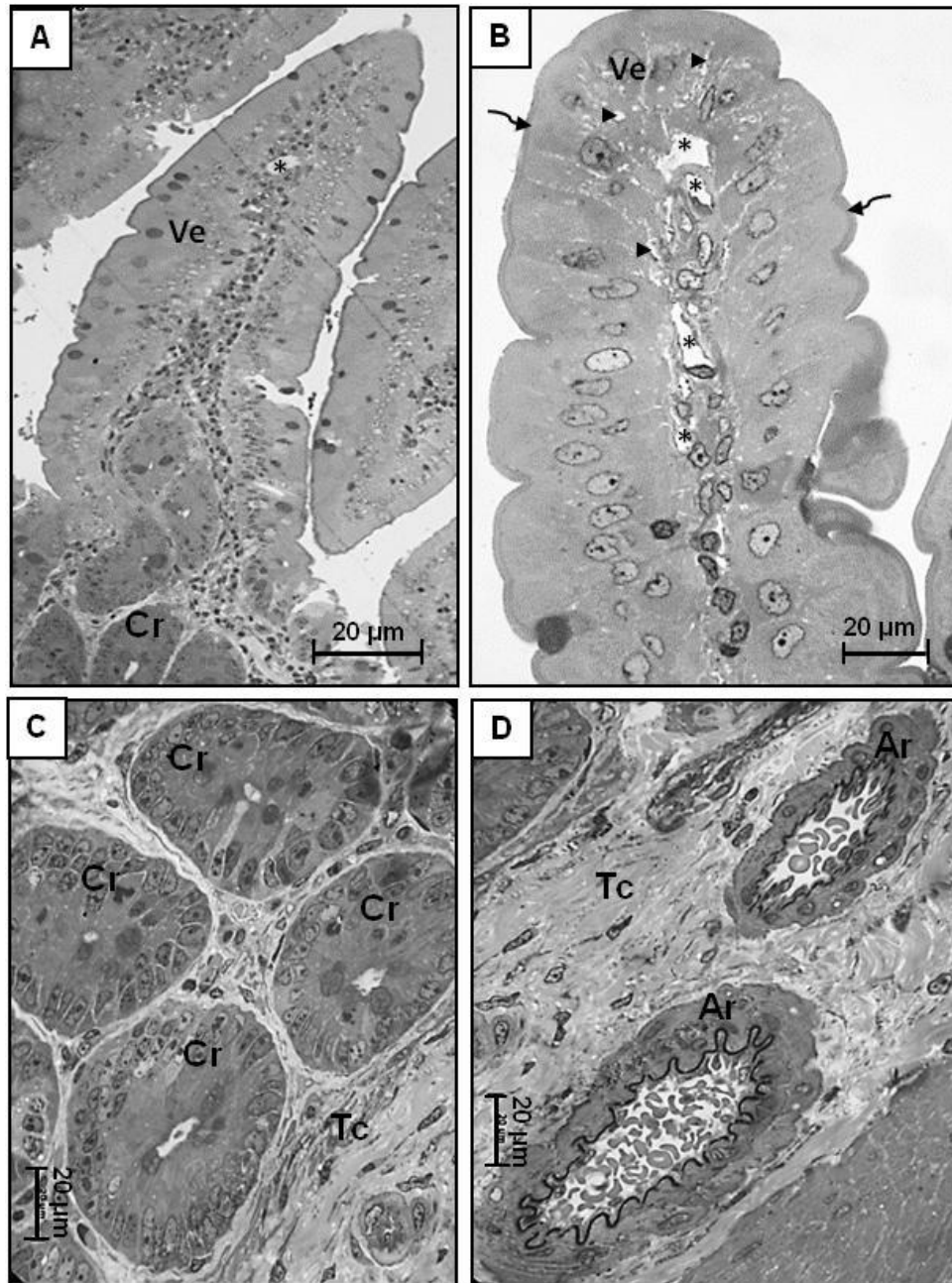


Figura 1. Cortes del intestino delgado a nivel del duodeno del grupo control. A y B. Vellosidades de la mucosa mostrando una estructura estable. C. Corte transversal de las criptas. D. Tejido conectivo del duodeno donde se evidencian arterias llenas de eritrocitos. Ve: Vellosidad; Asterisco: vaso quilífero central; Cabeza de flecha: vasos sanguíneos; Cr: Criptas; Tc: Tejido conectivo; Ar: Arteria.

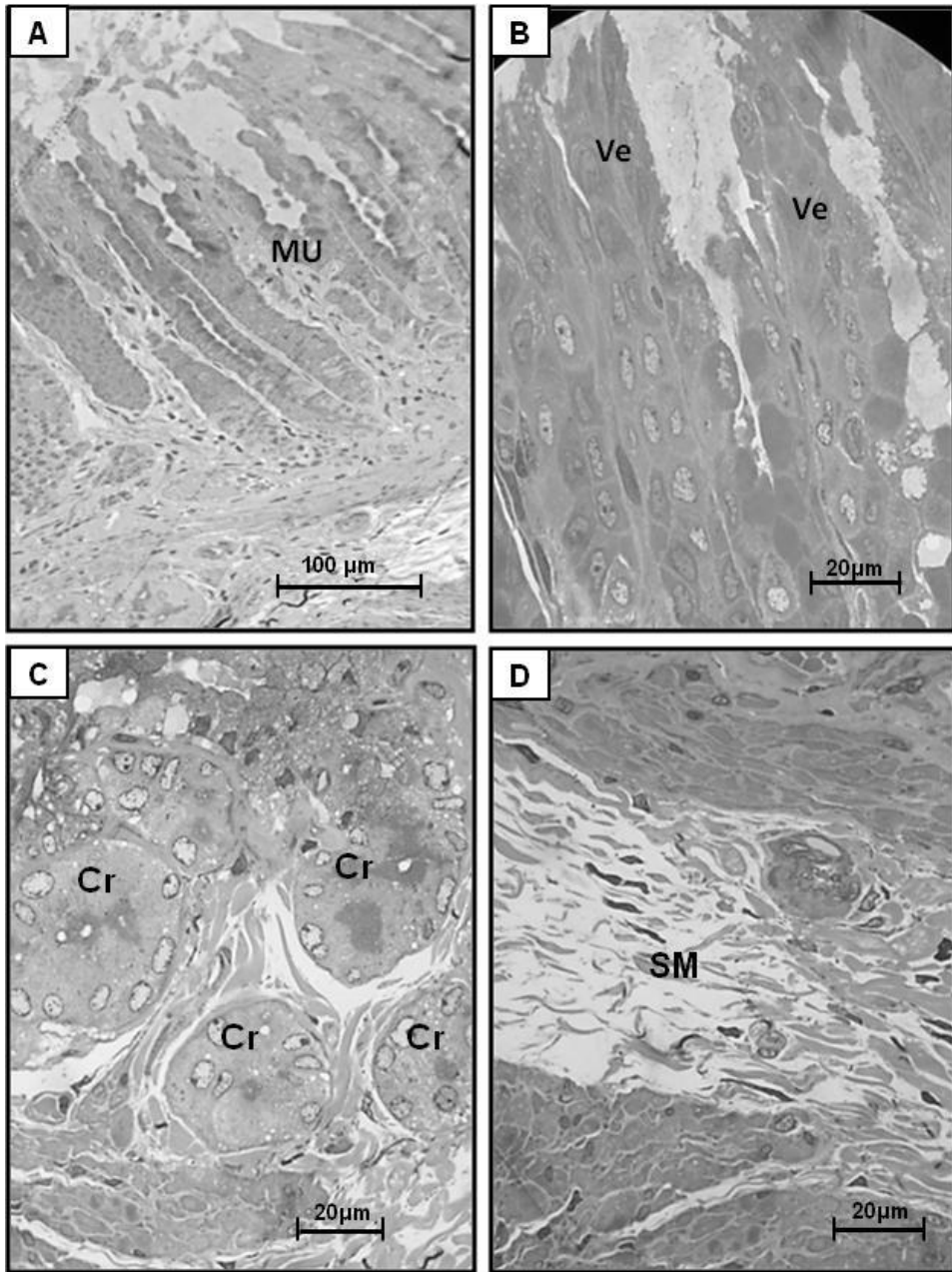


Figura 2. Cortes del intestino delgado a nivel del duodeno del grupo atorvastatina. A. Panorámica donde se observa la alteración de la mucosa. B. Detalle de las vellosidades mostrando irregularidades en el borde. C. Detalle de las criptas donde se evidencia la disminución de su tamaño con respecto al grupo control, la baja densidad celular y edema en sus zonas circundantes. D. Edema a nivel de la submucosa. Ve: Vellosidades necrosadas; Cr: Criptas; SM: Submucosa; ME: Muscular estriada.

En este trabajo, se demostró que hay infiltrado linfocitario en el duodeno de las ratas tratadas con atorvastatina. Ninguna presentó vómitos durante los seis meses de estudio. En la literatura internacional, se describen pacientes con inflamación a nivel de la mucosa duodenal, y se denomina duodenitis inespecífica, ya que se desconoce el agente causal (Naddaf and Folkmanas, 2011). Cuando el duodeno posee infiltrado eosinofílico, es por antecedentes alérgicos, llegando a afectar no solo el duodeno sino otros tejidos del sistema digestivo, como esófago, estómago, e intestino grueso (Martínez-Martínez *et al.*, 2020); no sería el caso de las ratas tratadas con atorvastatina.

Los pacientes con enfermedad celíaca refractaria (ECR) presentan una evidente atrofia vellositaria. No obstante, esta, no es la única causa de una atrofia vellositaria. Para hacer un buen diagnóstico, en pacientes con ECR, es necesario recurrir a técnicas inmunohistoquímicas, las cuales permiten detectar los diferentes linfocitos intraepiteliales (CD3/CD8) (Patey-Mariaud, *et al.*, 2000). Si los linfocitos se tiñen (CD3), es indicativo de ECR II y si no se tiñen, es ECR I (CD8). Habitualmente, en pacientes con ECR II, hay presencia de linfocitos aberrantes en sangre, estómago, duodeno y colon (Verkarre, *et al.*, 2003).

Existen dos tipos de esta patología, la ECR I, en la cual, los linfocitos intraepiteliales, presentan los marcadores de superficie CD3, CD8 y TCR. La ECR II, los linfocitos intraepiteliales están alterados, tienen una población aberrante, porque carece de los marcadores de superficie ya descritos (Isaacson, 2000). Sería interesante poder hacer análisis inmunohistoquímicos en los tejidos de ratas tratadas con atorvastatina, para poder determinar el tipo de población linfocitaria presente, ya que su presencia, no es indicativo de ECR únicamente.

El corte histológico del yeyuno de las ratas del grupo control, presentó vellosidades finas y alargadas. En la base de las vellosidades se observaron abundantes criptas con células caliciformes y células de Paneth (Figura 3). En cambio, en las ratas del grupo tratado con atorvastatina, se observaron las vellosidades necrosadas a nivel de la mucosa y ausencia de los conductos quilíferos (Figura 4A). Así como, infiltrados linfocitarios abundantes en la mucosa de las vellosidades (Figura 4B). En las criptas, también hay evidencia de necrosis (Figura 4C). En la arteria del yeyuno, se pudo visualizar grosor irregular en la túnica media (Figura 4D).

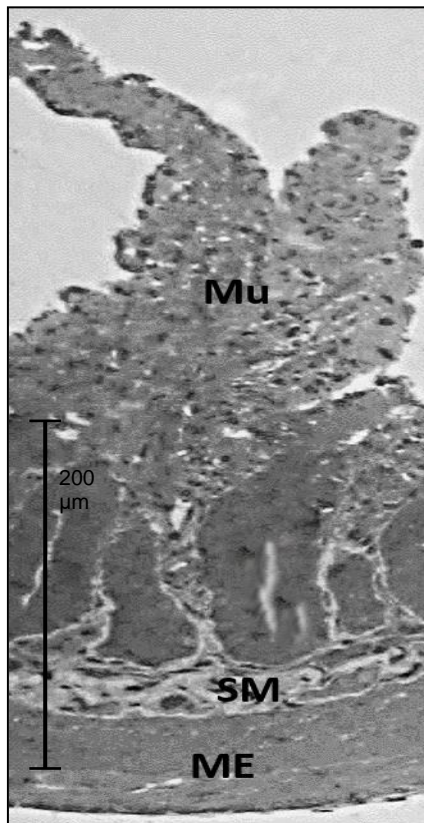


Figura 3. Cortes del intestino delgado a nivel del yeyuno del grupo control. Observe tejido bien estructurado. Mu: mucosa; SM: sub-mucosa; ME: muscular externa.

Un paciente con diagnóstico de yeyunitis ulcerativa, su resultado anatomopatológico de la biopsia, fue de infiltrado linfoplasmocitario moderado, en lámina propia, con predominio de células plasmáticas, atrofia vellositaria parcial, áreas de ulceración, abscesos intramurales, fisuras, fibrosis y trombosis aisladas. Las características histológicas observadas correspondieron en ese paciente, al diagnóstico de íleo yeyunitis ulcerativa crónica (Pérez *et al.*, 2004).

Aunque las ratas tratadas con atorvastatina, presentan infiltrados linfocitarios en la lámina propia y necrosis de las vellosidades, no se puede hablar de que presenten una yeyunitis ulcerativa pues no tienen todas las características indicadas anteriormente.

Existen reportes de atrofia vellositaria, asociada a fármacos, como azatioprina, colchicina, ipilimumab, micofenolato de mofetilo, metotrexate, neomicina y olmesartán (Tran and Li, 2014; Marietta *et al.*, 2015; Modesto *et al.*, 2017). Las enteropatías medicamentosas, podrían estar infradiagnosticadas. Se han descrito casos aislados de enteropatías asociadas a irbesartán y valsartán (Marietta *et al.*, 2015). Este es el primer reporte de atrofia vellositaria, asociada al uso prolongado de atorvastatina.

Con respecto a las ratas del grupo control, en la figura 5 se puede observar que en los cortes del intestino delgado a nivel de la estructura del íleon está íntegra, pudiéndose diferenciar la mucosa, submucosa y capa muscular externa (Figura 5A). Las vellosidades de la mucosa mostraron una estructura no alterada, donde se evidencia claramente la lámina propia y el epitelio de revestimiento (Figura 5B). En el corte longitudinal del íleon (Figura 5C), las criptas, no presentaron alteraciones. Se visualizaron abundantes enterocitos y células caliciformes, así como el conducto secretor.

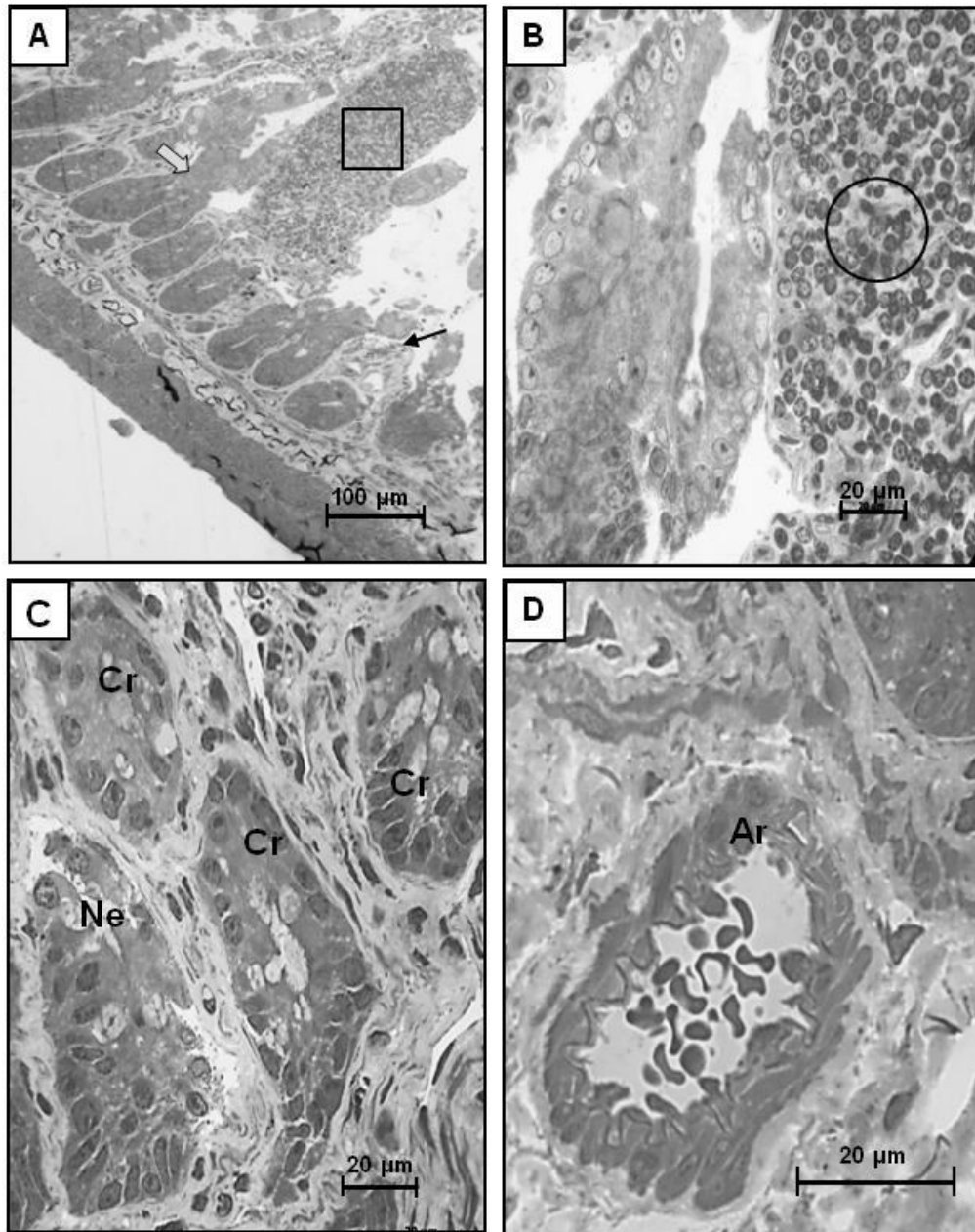


Figura 4. Cortes del intestino delgado a nivel del yeyuno del grupo atorvastatina. A. Panorámica donde se observa la ausencia de vellosidades en la mucosa. Bifurcación de las criptas. B. Detalle de una vellosidad mostrando infiltrado linfocitario. C. Detalle de las criptas donde se evidencia proceso de necrosis. D. Detalle de arteria con la túnica media de grosor irregular. Flecha: Mucosa sin vellosidades; Flecha blanca: cripta bifurcada; Cuadrado: Infiltrado linfocitario; Circulo: Linfocitos; Ne: Necrosis, Cr: Cripta; Ar: Arteria.

En los cortes del intestino delgado a nivel del íleon del grupo de ratas tratadas con atorvastatina, se observó la ausencia de vellosidades en la mucosa (Figura 6A), así como vellosidades con infiltrado linfocitario (Figura 6B). Además, hay una disminución del tamaño de las criptas, baja densidad celular, edema en sus zonas circundantes (Figura 6C) y criptas en proceso de necrosis (Figura 6D).

En el corte transversal del intestino grueso a nivel del colon descendente del grupo control, se observó la estructura completa (Figura 7A) y las criptas con su estructura intacta (Figura 7B).

Mientras que en los cortes del intestino grueso a nivel del colon descendente del grupo atorvastatina, se observó un proceso de necrosis en el epitelio de la mucosa (Figura 8A), así como en las criptas (Figura 8B), edema en el tejido conectivo (Figura 8C) que abarca la submucosa (Figura 8D).

En un estudio donde se evaluaron cuatro pacientes españoles con colitis ulcerosa, se encontró que uno, poseía ulceración de la mucosa colónica, además de las glándulas dilatadas e infiltrado linfoplasmocitario (Zabana *et al.*, 2007). A diferencia de ese trabajo, en este estudio se evidenciaron los mismos hallazgos, sin embargo, ellos reportaron criptitis y abscesos crípticos, cosa que no fue observada en el colon de las ratas tratadas con atorvastatina durante seis meses.

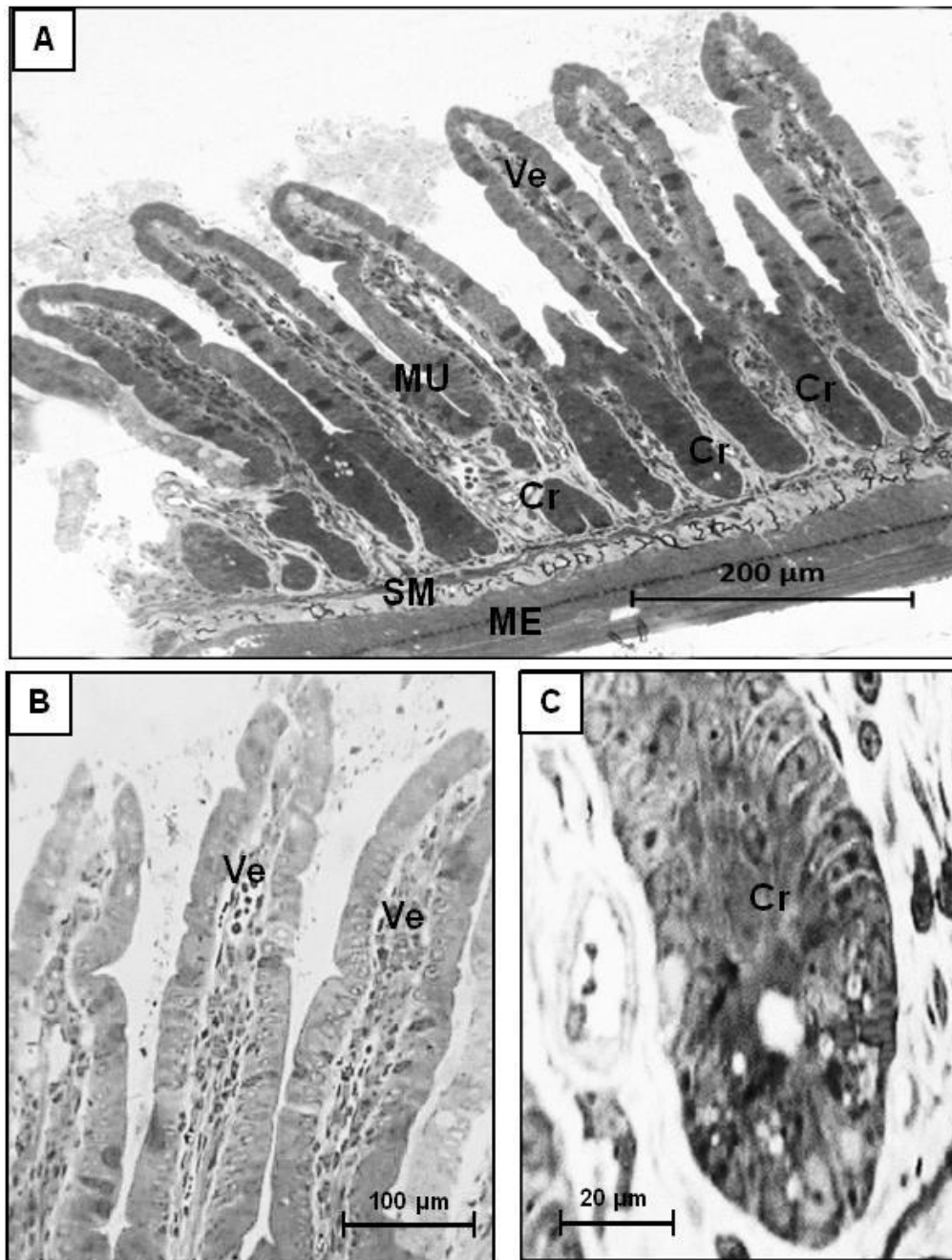


Figura 5. Cortes del intestino delgado a nivel del íleon del grupo control. A. Micrografía panorámica donde se observa la estructura completa del íleon. B. Vellosidades de la mucosa mostrando una estructura estable. C. Corte longitudinal de una cripta sin alteraciones. MU: Mucosa; Ve: Vellosidades; SM: Submucosa; ME: Muscular externa; Cr: Criptas.

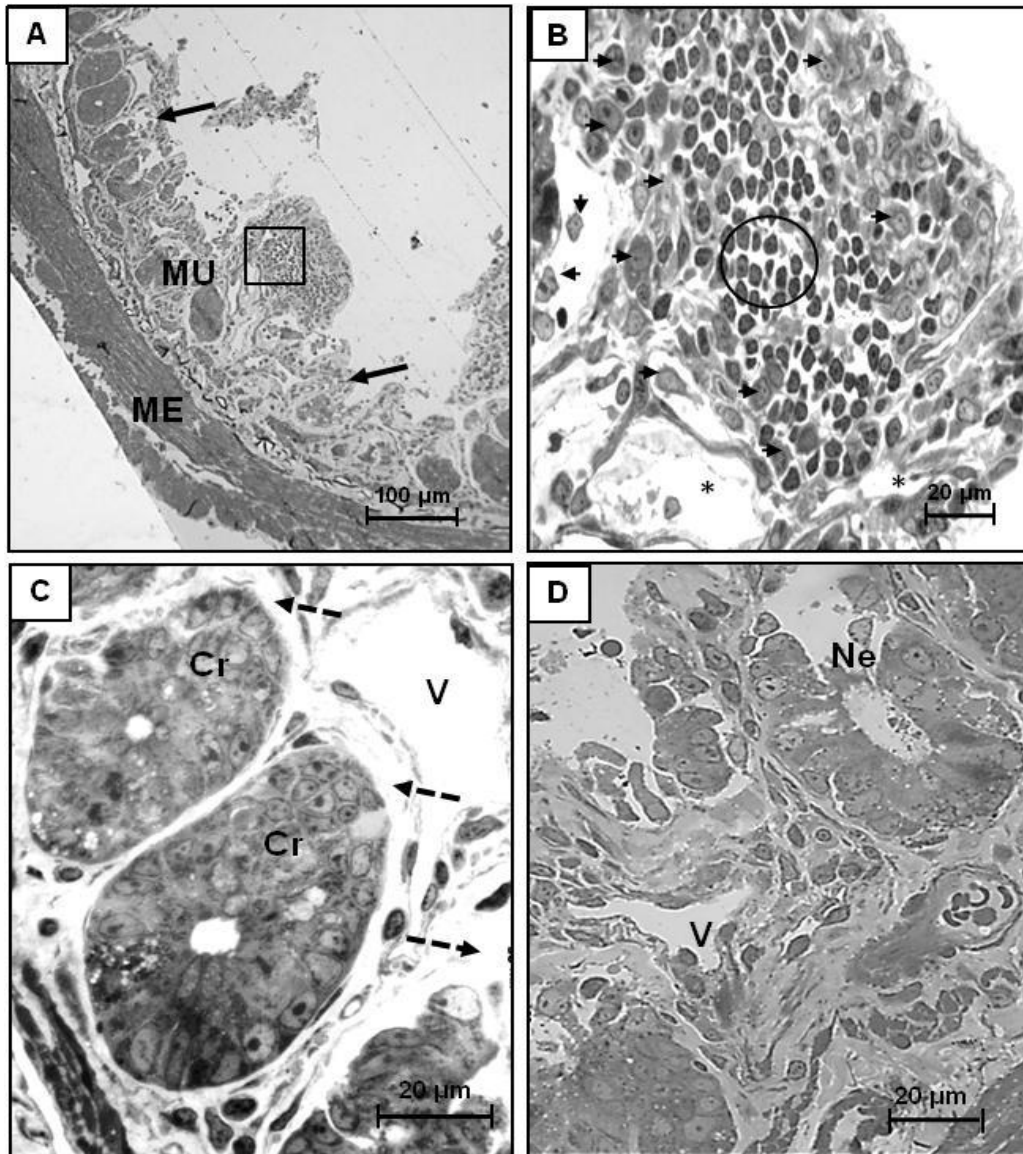


Figura 6. Cortes del intestino delgado a nivel del íleon del grupo atorvastatina. A. Panorámica donde se observa la ausencia de vellosidades en la mucosa. B. Detalle de una vellosidad mostrando infiltrado linfocitario. Observe la gran cantidad de macrófagos. C. Detalle de las criptas donde se evidencia la disminución de su tamaño, la baja densidad celular y edema en sus zonas circundantes. D. Cripta con proceso de necrosis. MU: Mucosa; Flecha: Vellosidades necrosadas; SM: Submucosa; ME: Muscular externa; Cuadrado: Infiltrado linfocitario; Circulo: Linfocitos; Flecha corta: macrófagos; Flecha punteada: Edema; Cr: Cripta; V: vena.

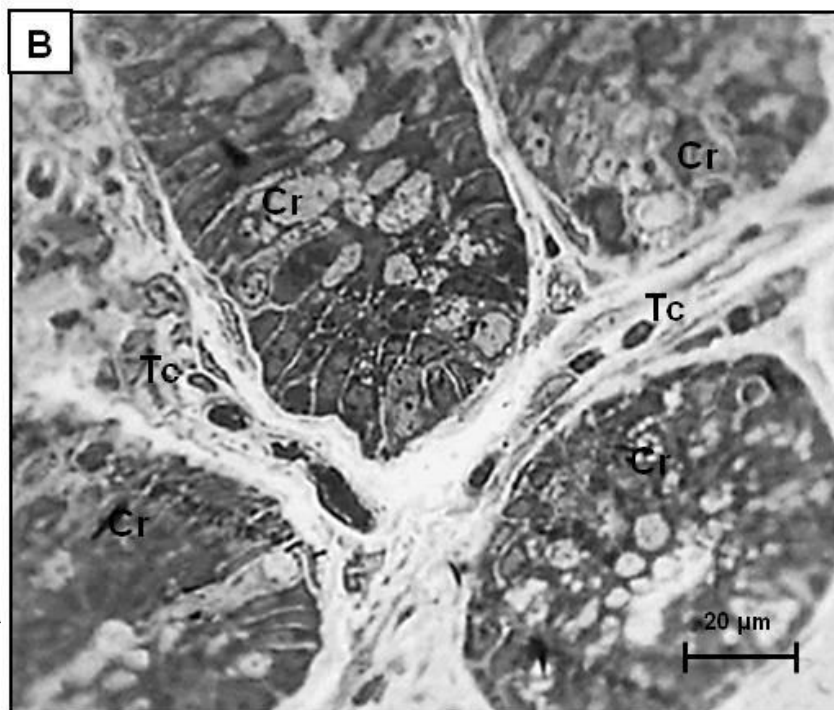
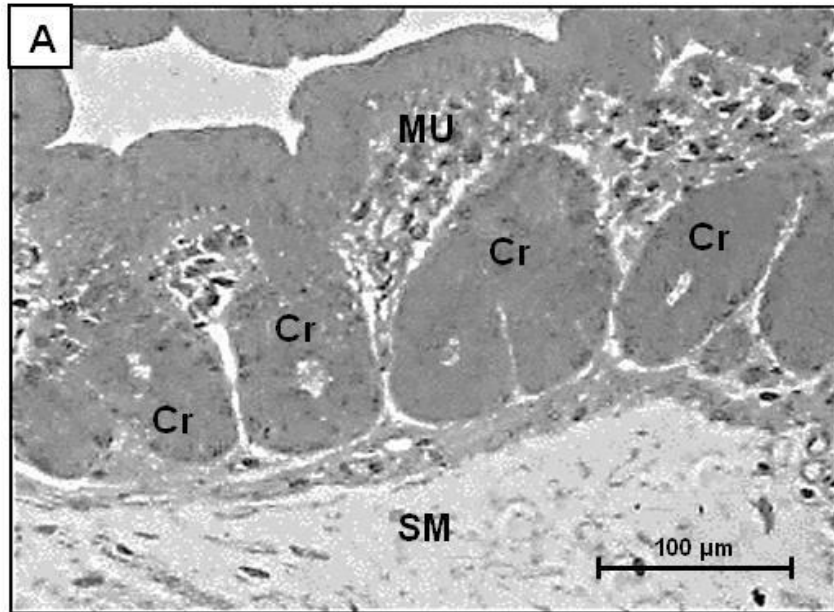


Figura
control
colon.

te del grupo
completa del
un tejido sin
alteraciones estructurales. Mu: mucosa; SM: submucosa; ME: muscular externa.

La colitis microscópica puede ser linfocitaria o colágena. Es linfocitaria, cuando, en la lámina propia, se observa infiltrado de linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos. No hay presencia de abscesos crípticos, ni necrosis de las glándulas. Se suele notar aplanamiento y vacuolización de

las células del epitelio de la superficie. En la colitis colágena, aparte de lo ya mencionado, hay un engrosamiento irregular de la superficie de la mucosa, por depósito no habitual de colágeno (Bauta and Pupo, 2017). Se recomienda realizar la identificación de los infiltrados en las muestras de las ratas tratadas con atorvastatina, para un futuro estudio.

Tabla 1. Características histológicas de muestras intestinales analizadas de especímenes de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley controles

Histología	Ratas controles			
	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Colon
Mucosa	Intacta	Intacta	Intacta	Intacta
Submucosa	Intacta	Intacta	Intacta	Intacta
Muscular	Intacta	Intacta	Intacta	Intacta
Serosa	Intacta	Intacta	Intacta	Intacta
Criptas de Lieberkühn	Intactas	Intactas	Intactas	Intactas
Abscesos crípticos	NO	NO	NO	NO
Criptitis	NO	NO	NO	NO
Infiltrado leucocitario	NO	NO	NO	NO
Glándulas de Brunner	Intactas	NA	NA	NA
Vasos quilíferos	Intactos	Intactos	Intactos	Intactos
Placas de Peyer	NA	NA	Intacta	NA

NA: No aplica

Cuando se evalúa histológicamente una muestra, hay que observar si hay cambios agudos o crónicos en el epitelio, así como signos de inflamación (Danielsson *et al.*, 1987). La actividad microscópica está basada no solo en presencia de leucocitos, sino en el tipo (Goldman, 1994). La presencia de neutrófilos, siempre produce daño epitelial (Keren *et al.*, 1984).

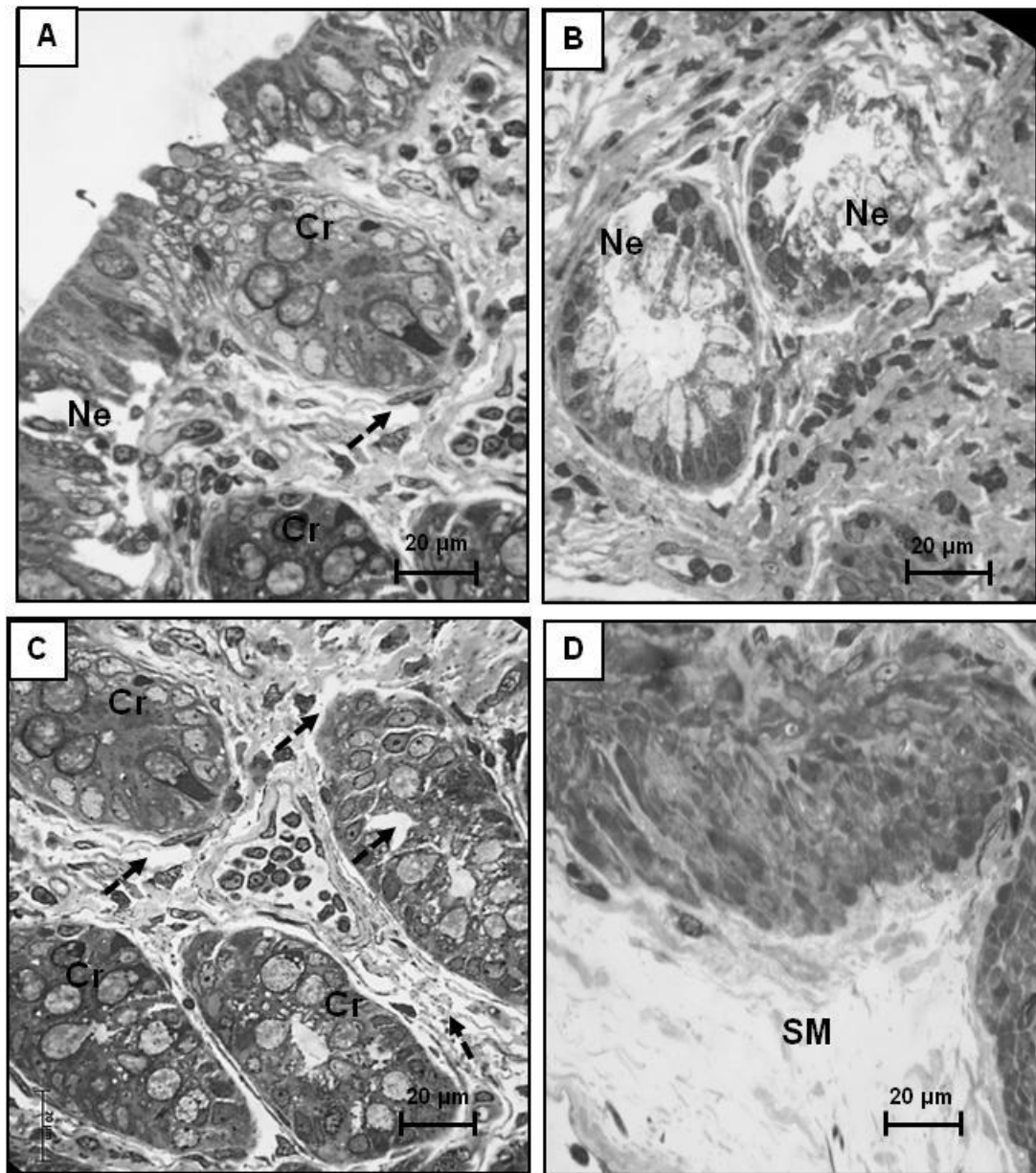


Figura 8. Cortes del intestino grueso a nivel del colon descendente del grupo atorvastatina. A. Proceso de necrosis en el epitelio de la mucosa. B. Detalle de criptas mostrando necrosis. C. Se evidencia edema en el tejido conectivo que circunda las criptas. D. Corte a nivel de la submucosa mostrando edema. Ne: Necrosis, Cr: Criptas; Flecha punteada: Edema; SM: Sub-mucosa.

En pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal se observa la alteración de la arquitectura de las criptas. Hay criptas que se ramifican o bifurcan, varían en tamaño y forma, incluso se pueden observar despegadas de la capa muscular. En ocasiones, dependiendo del estado evolutivo de la inflamación intestinal, se observa plasmocitosis basal, que no es más que la infiltración de la lámina propia (Stratton and Younes, 2017). En este trabajo, la arquitectura estructural de todo el intestino se vio alterada, unas en mayor grado que otras. Sin embargo, en ninguna de las muestras, hubo bifurcación de las criptas. En las muestras de íleon, si hay desprendimiento de la mucosa de la capa muscular.

Tabla 2. Características histológicas de muestras intestinales analizadas de especímenes de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley tratados con atorvastatina durante seis meses

Histología	Ratas con atorvastatina			
	Duodeno	Yeyuno	Íleon	Colon
Mucosa	Erosión	Ulceración	Ulceración	Atrofiada
Submucosa	Edematizada	Intacta	Ulceración	Erosión
Muscular	Intacta	Intacta	Intacta	Intacta
Serosa	Intacta	Intacta	Intacta	Intacta
Criptas de Lieberkühn	Necrosis parcial	Necrosadas	Necrosadas	Necrosadas
Abscesos crípticos	NO	NO	NO	NO
Criptitis	NO	NO	NO	NO
Infiltrado leucocitario	Moderado	Abundante	Abundante	NO
Glándulas de Brunner	Intactas	NA	NA	NA
Vasos quilíferos	Epitelio distorsionado	Túnica media irregular	Epitelio distorsionado	Edema intersticial
Placas de Peyer	NA	NA	Intacta	NA

NA: No aplica

No se observaron cambios en las muestras del intestino de las ratas controles. Razón por la cual, el IAH de las ratas fue 0 y carece de score inflamatorio. En todas las muestras analizadas del intestino delgado y el colon, de ratas tratadas con atorvastatina durante seis meses consecutivos, se observaron lesiones en menor o mayor grado, dependiendo del segmento analizado (Tabla 2). El tipo de infiltrado no pudo ser determinado, porque las muestras solo fueron teñidas con azul de toluidina. El IAH de las muestras de las ratas tratadas con atorvastatina se observa en la Figura 9; el score inflamatorio fue 2.75.

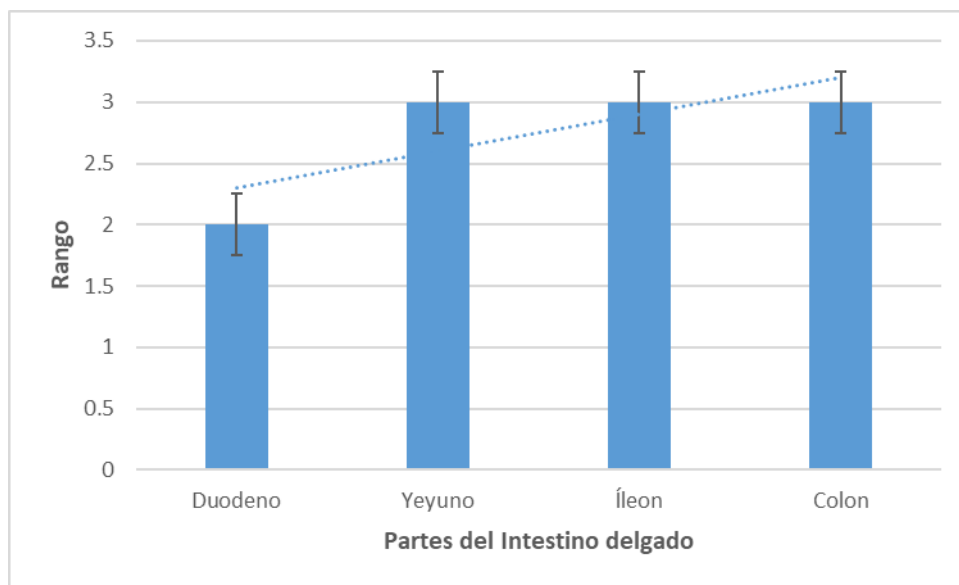


Figura 9. Índice de actividad histológica de las muestras del intestino de ratas tratadas con atorvastatina

Las alteraciones de la capa mucosa del epitelio intestinal, distorsionan la asociación íntima de las bacterias de la microbiota intestinal con el intestino. Esto es un componente que favorece procesos inflamatorios y, por consiguiente, cambios en la permeabilidad intestinal, característico de la

enfermedad inflamatoria intestinal (Hendrickson *et al.*, 2002). En procesos inflamatorios, como los observados en las ratas tratadas con atorvastatina, los macrófagos contribuyen a una respuesta inapropiada por el estímulo de microorganismos entéricos en un intestino permeable. Esto favorece la translocación de componentes bacterianos hacia la circulación sistémica, originando procesos inflamatorios fuera del intestino (Scotti *et al.*, 2017).

La microbiota Gram negativa intestinal, está fuertemente asociada con la respuesta inmune innata, como un elemento crítico, en la patogénesis de la enfermedad de Chron (Hendrickson *et al.*, 2002). En la literatura, hay reportes de enfermedad inflamatoria intestinal, en modelos animales; dichos estudios están basados en procesos espontáneos o inducidos (Dielman *et al.*, 1997; Blumberg *et al.*, 1999). En los inducidos, hay: a) animales que han recibido agentes inductores de inflamación, b) roedores manipulados genéticamente para que desarrollen inflamación, y, por último, c) animales inmunodeprimidos, a los cuales, se les han suministrado, células que median la inflamación intestinal (Hendrickson *et al.*, 2002).

Está demostrado que existen varias sustancias que causan lesiones a nivel de la mucosa intestinal como dextrán sulfato de sodio (5%), indometacina, ácido trinitrobenzeno sulfónico (Elson *et al.*, 1995). Después de eliminar el uso de dextrán sulfato de sodio, pasan unas cuantas semanas, antes de restaurarse la mucosa intestinal (Elson *et al.*, 1995; Dielman *et al.*, 1997). Las lesiones pueden ser crónicas en pacientes genéticamente susceptibles y mimetizar algunos aspectos de la enfermedad de intestino inflamado en humanos (Elson *et al.*, 1995). Valga la acotación, que las ratas tratadas con atorvastatina, no desarrollaron diarrea durante los seis meses del estudio.

La histología de una paciente con una diarrea de cuatro meses de evolución, sin elementos patológicos en los exámenes de heces, confirmó el diagnóstico de colitis eosinofílica. La evaluación de segmentos de mucosa colónica, demostró epitelio cilíndrico simple con células caliciformes intercaladas. Escasa migración intraepitelial de eosinófilos, corion con leve edema, hiperemia capilar superficial, con infiltrado inflamatorio crónico compuesto por linfocitos aislados o folículos linfoides, además de plasmocitos. De quince a 20 eosinófilos por campo. En algunos segmentos, se observó la muscular de la mucosa conservada (Sánchez *et al.*, 2018). En las muestras de la porción colónica de las ratas tratadas con atorvastatina, no se determinaron los tipos de infiltrados celulares; se recomienda hacerlo en un estudio posterior, para determinar el tipo celular implicado con el uso de atorvastatina.

Cincuenta y cuatro por ciento de los pacientes con diarrea crónica, presentaron anomalías histológicas inespecíficas (colitis crónica inespecífica) que no se consideraron clínicamente significativas. No obstante, en 36% de los pacientes, si hubo cambios histopatológicos significativos. Veintidos por ciento de los pacientes tuvo colitis eosinofílica y 4.5% colitis linfocítica (Díaz-Moya *et al.*, 2015). En el caso de las ratas tratadas con atorvastatina, es probable que, por el corto período de tratamiento, los hallazgos histológicos, no permitan un desarrollo clínico de síntomas clínicos (vómitos, diarreas, desnutrición, etc), por lo que, habría que evaluar períodos más largos, para poder determinarlo.

Es evidente que estas ratas tratadas con atorvastatina durante seis meses, no poseen una barrera epitelial intestinal funcional, ya que la estructura de los intestinos está bastante deteriorada. La estabilidad de la microbiota depende de la integridad de ese epitelio intestinal. Ese mismo

epitelio, es el que alberga las células del sistema inmune y permite una comunicación entre el intestino, la microbiota y el sistema inmune, para mantener la homeostasis del intestino (Saenz *et al.*, 2008; Eri and Chieppa, 2013).

La capa de moco del intestino, es la primera línea de defensa del intestino (Yu *et al.*, 2004). El moco es para asegurar la absorción de los alimentos. El moco intestinal tiene dos capas, una externa y una interna; en la externa, es donde se adhieren los microorganismos de la microbiota y la interna, es impermeable a los microorganismos (Johansson *et al.*, 2008). La destrucción de las células caliciformes, produce un desequilibrio en la producción de moco en el intestino. La ausencia de mucina, hace al intestino vulnerable a inflamación, la cual permite el desarrollo de colitis espontánea y cáncer colon-rectal (Chelakkot *et al.*, 2018). En las ratas tratadas con atorvastatina, se observan escasas células caliciformes, lo cual pudiera estar predisponiendo a personas que toman atorvastatina por largos períodos, por a dejar de producir moco en el intestino.

Un intestino íntegro, le confiere estabilidad a la impermeabilidad (barrera intestinal), y garantiza, una alta tasa de renovación celular (Bjerknes and Cheng, 2005); en individuos con epitelios erosionados, ulcerados o necrosados, esta capacidad se pierde. Las células del epitelio intestinal, se renuevan cada dos días (Okamoto and Watanabe, 2004), debido a lo esencial de una estructura estable para la salud del cuerpo humano, a través de su homeostasis (Williams *et al.*, 2015). Las ratas tratadas con atorvastatina, no se pueden renovar, ya que está severamente lesionado el tejido intestinal.

Aún no está claro, en la literatura internacional, el significado de la patogénesis cuando hay disrupción de la barrera intestinal, es decir, si es una consecuencia o una causa, ya que se ha reportado en pacientes con enfermedades autoinmunes, enfermedad inflamatoria intestinal y desórdenes metabólicos (Ma, 1997). Es imperativo entender cómo, los factores ambientales o la fisiopatología, aumentan la permeabilidad de la barrera intestinal y hace que esta se pierda (Chelakkot *et al.*, 2018). Lo que, si está claro en esta investigación, es que las ratas tratadas con atorvastatina durante seis meses, perdieron la arquitectura superficial, tanto del intestino delgado como grueso y las células fundamentales para su funcionamiento, están necrosadas, eliminando la estructura base para la colonización intestinal, por parte de una microbiota estable.

La desregulación de la respuesta inmune de la mucosa intestinal puede ser responsable de la inflamación del intestino (Kucharzik *et al.*, 2006). La pérdida de la integridad de la barrera intestinal es una característica propia de la enfermedad inflamatoria intestinal. Está descrito en diferentes publicaciones, que un intestino permeable es el que dispara todos los eventos patológicos para un intestino inflamado, por el paso al torrente sanguíneo, de las fracciones bacterianas por el interior de la mucosa intestinal, activando cascadas pro-inflamatorias (Takeuchi *et al.* 2004).

El cuerpo humano se abastece de colesterol a través de tres vías principales: la dieta, el epitelio intestinal y la bilis. En la dieta occidental, hay un promedio de 500 mg de colesterol, mientras que la descamación del epitelio intestinal (enterocitos) proporciona 300 mg y la bilis, 1200 mg diarios, para un total de 2000 mg netos de lípidos. El colesterol, se absorbe mayormente en el duodeno y yeyuno proximal. La absorción de este lípido,

inicia en el estómago y continúa en el lumen intestinal (Hofmann and Borgström, 1964).

Las micelas transportan el colesterol del lumen intestinal, hacia las células del borde en cepillo, para ser absorbido por los enterocitos, en forma de monómeros. Aproximadamente, la mitad de las moléculas de colesterol, se dirigen hacia el retículo endoplásmico del enterocito, para ser esterificado por la enzima ACAT, antes de su incorporación a las partículas de quilomicrones. Las sales biliares que no son reabsorbidas en el intestino, son excretadas como esteroides neutros. Cualquier factor que modifique el transporte de colesterol del lumen intestinal hacia la linfa, influye en su biodisponibilidad (Méndez and Uribe, 2008). Ante la destrucción del epitelio del intestino delgado con el uso prolongado de atorvastatina, es difícil que estas ratas puedan absorber nutrientes de forma adecuada y peor aún, abastecer de lípidos a las células, para sus funciones fisiológicas.

Una forma de restablecer naturalmente la integridad del epitelio intestinal en los usuarios de atorvastatina, sería la administración oral de la bacteria *Akkermansia muciniphila*, porque está implicada en la regulación de la integridad de la barrera intestinal (Dao *et al.*, 2016). Se ha demostrado que, la proteína Amuc100, sintetizada por esta bacteria, mejora la integridad de la barrera intestinal (Plovier *et al.*, 2017). Por otro lado, las vesículas extracelulares de *A. muciniphila*, interactúan directamente con las células del epitelio intestinal, disminuyendo así, los síntomas de colitis en ratones experimentales (Kang *et al.*, 2013).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS), son producidas por el metabolismo celular oxidativo para cumplir varios procesos fisiológicos (Di Meo *et al.*, 2016). Estas especies son extremadamente

reactivas con electrones desapareados como óxido nítrico (\bullet NO), radical hidroxilo (\bullet OH), superóxido (\bullet O₂), radicales alcoxilo (\bullet RO), y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (Neish, 2013). Estas sustancias en exceso, ocasionan alteraciones fisiológicas graves, ya que transforman las señalizaciones celulares (Jones *et al.*, 2012).

El intestino es una fuente principal de ROS (Bhattacharyya *et al.*, 2014), por la alta carga bacteriana que ahí se encuentra, lo cual facilita el desarrollo de patologías (Neish, 2013). Está demostrado que el estrés oxidativo, es la llave que dispara los procesos inflamatorios, úlceras gastroduodenales y neoplasias gástricas (Balmus *et al.*, 2016; Choghakhori *et al.*, 2017).

En los procesos inflamatorios crónicos, como enfermedad inflamatoria intestinal (EII), úlceras, colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn hay disfunción intestinal (Foster *et al.*, 2017). Se ha demostrado en todos estos casos, la presencia abundante de ROS, NOS (óxido nítrico sintasa) y citocinas proinflamatorias, como causa y efecto de estos trastornos (Seril *et al.*, 2003; Matsuoka and Kanai, 2015).

La peroxidación de los lípidos y la alteración de la homeostasis entre los oxidantes y los antioxidantes, está estrechamente relacionada con el desarrollo de síndrome de intestino irritable (SII) (Mete *et al.*, 2013; Choghakhori *et al.*, 2017). Esto es un círculo vicioso, ya que esta patología está relacionada con la disminución de la diversidad de la microbiota intestinal, especialmente, el filo Firmicutes y un aumento en consecuencia de Proteobacterias (Matsuoka and Kanai, 2015).

En los pacientes que padecen de SII, se ha demostrado la escasa presencia de miembros del grupo XIVa de *Clostridium*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Latobacillus*, *Bifidobacterium* y Bacteroides (Loh and Blaut, 2012)

El estrés oxidativo en el intestino conduce a cambios de estados de anaerobiosis a auxotróficos, con mayor proporción de aerotolerantes o anaerobios facultativos, con lo cual, la microbiota pasa de un estado de simbiosis a patobiosis en pacientes con enfermedad de Crohn (Gevers *et al.*, 2014). Así mismo, se ve afectada la comunidad de arqueas, pues pasan de ser predominantemente metanogénicas a acetogénicas, reduciendo el hidrógeno acumulado y aumentando los representantes de la vía de degradación del benzoato, el metabolismo de los fosfolípidos y LPS (Gevers *et al.*, 2014). En pacientes con estos cambios microbiológicos en su intestino, asociados con disbiosis, hay siempre un aumento del ratio Firmicutes/Bacteroides (Jeffery *et al.*, 2011).

VIII.2 Cambios estructurales en la histología del hígado de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley:

El examen histológico de los cortes transversales y longitudinales de los hígados de los ejemplares de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley controles, no presentó alteraciones en su arquitectura lobulillar, trabecular ni portal. Los hepatocitos ni sinusoides, mostraron cambios estructurales. No hubo evidencia de erosión, congestión, necrosis, inflamación ni fibrosis en ninguna de las muestras analizadas. Se observó la forma estructural hexagonal característica de los hepatocitos, distribuidos en cadena y pocos hepatocitos binucleados (Figura 10A). Se observó perfectamente la vena central y sus zonas circundantes (Figura 10B).

En los hígados de las ratas tratadas con atorvastatina se visualizó balonización, binucleación hepatocelular aumentada, así como, granularidad y vacuolización del citoplasma hepatocelular y sinusoides dilatados (Figura 11A), además, se perdió la organización estructural de los hepatocitos en cadena, las células se volvieron redondas o deformes. En los cortes se observaron cúmulos de color oscuro, los cuales corresponden a mitocondrias extracelulares por la necrosis total de varios hepatocitos (Figura 11B), sinusoides hepáticos edematizados y presencia de abundantes células de Kupffer (Figura 11C).

Las células de Kupffer se activan para generar ROS oxidar y modificar lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y eventualmente causar la apoptosis de los hepatocitos (Zandieh *et al.*, 2011). Esto se visualiza en pacientes con hepatitis aguda, en la cual se exhibe necroinflamación crónica (Hagen *et al.*, 1994), por la alta producción de ROS, ante la infección viral (Lang *et al.*, 2013). Cuando ante la misma infección viral, el organismo no es capaz de producir ROS, no hay destrucción tisular a nivel hepático (Hagen *et al.*, 1994). En las ratas tratadas con atorvastatina, no se sabe si el inicio de la destrucción del tejido hepático es la alta producción de ROS o es una consecuencia que agudiza el cuadro inflamatorio de los animales, por la no disponibilidad de lípidos suficientes para cumplir con las funciones fisiológicas del hígado.

En un estudio histológico hepático, realizado con ratas macho Wistar, tratadas con spirotetramat (un insecticida), se visualizaron cambios en la estructura hexagonal de los hepatocitos, sinusoides dilatados y colestasis (Falcón-Etchechury *et al.*, 2013), al igual que en este estudio con atorvastatina.

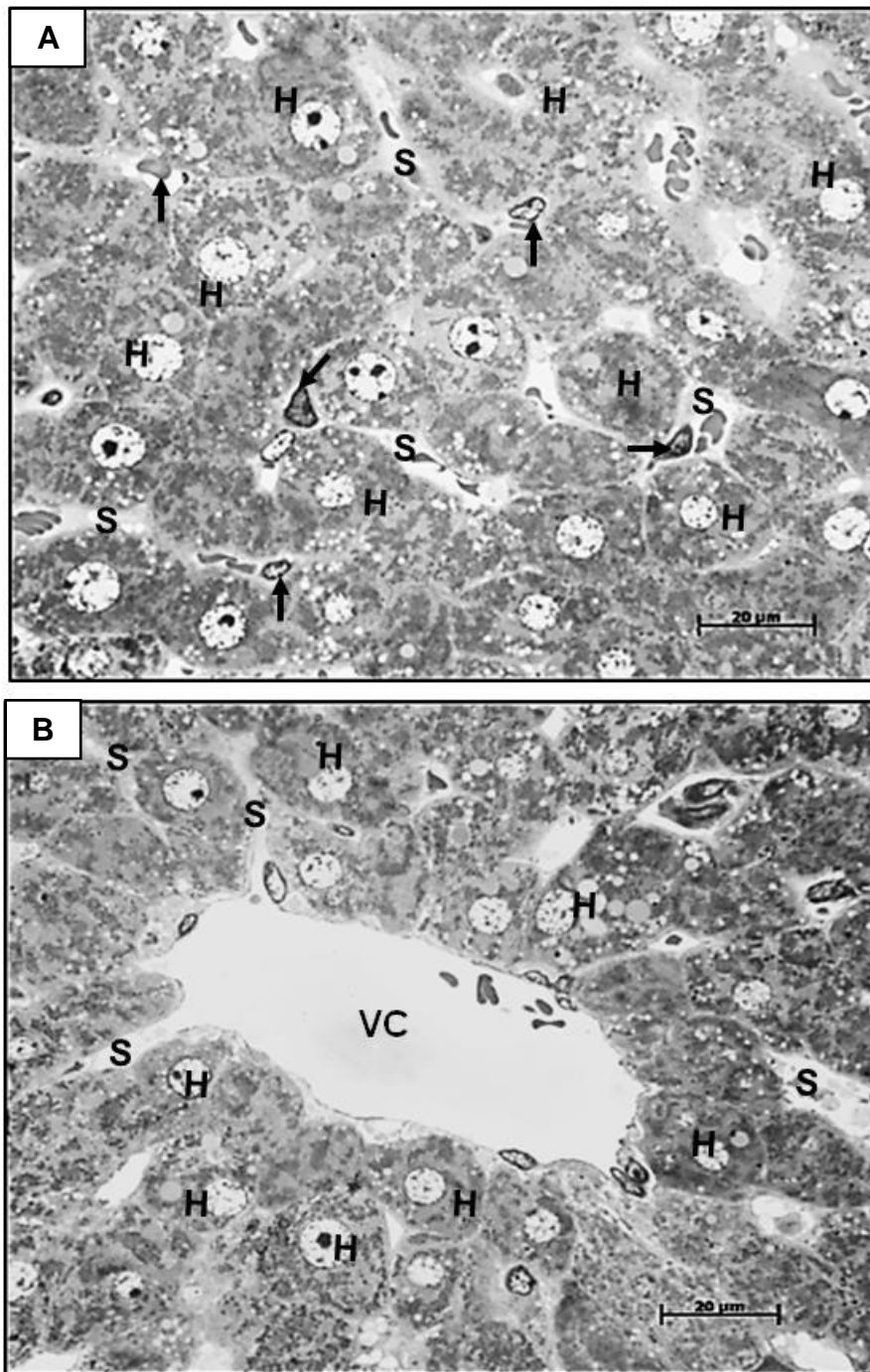


Figura 10. Micrografía del hígado de ratas del grupo control. A. Corte donde se observa la estructura estable del hígado. B. Detalle de la vena central y sus zonas circundantes. H: Hepatocito; Flecha: Células de Kuffer; S: Sinusoides; VC: Vena central.

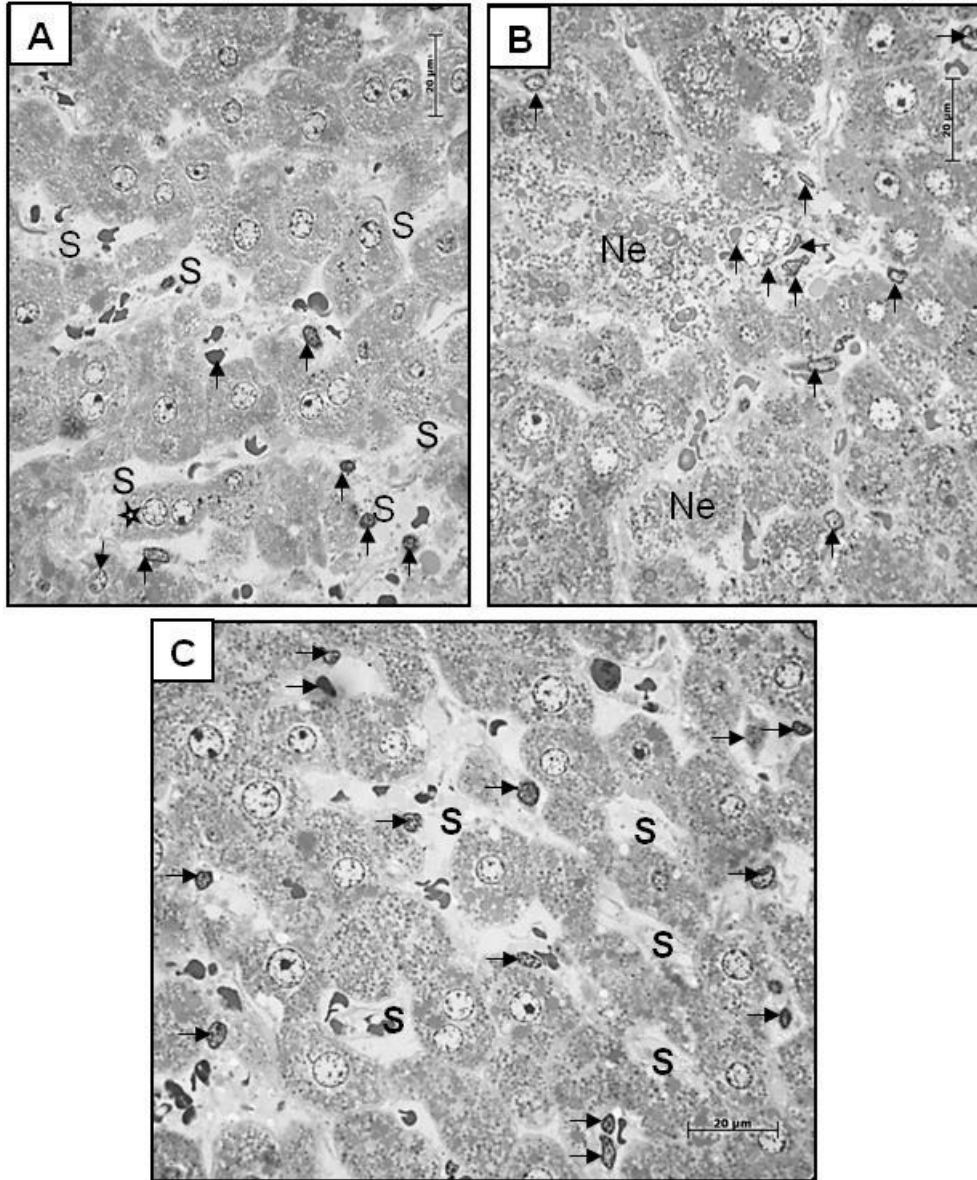


Figura 11. Micrografía del hígado de ratas del grupo atorvastatina. A. Se observa la presencia de hepatocitos binucleados. B. Proceso de necrosis. C. Sinusoides hepáticos edematizados y presencia de abundantes células de Kupffer. H: Hepatocitos; Estrella: Hepatocitos binucleados, S: Sinusoides. Flechas negras: células de Kupffer.

En ratas que expresan diabetes tipo 2 de forma espontánea (eSS), se hicieron estudios histopatológicos del hígado y observaron movilización de células de Kupffer, lo cual, indicaría la existencia de un proceso inflamatorio hepatocelular. Esto trae consigo, la activación de citoquinas pro-inflamatorias *in situ*. La binucleación hepatocelular es un indicio de regeneración, pareciera coexistir en forma simultánea en lesiones celulares como procesos de compensación (Daniele *et al.*, 2007).

Cuando se hacen estudios histológicos hepáticos, es vital, observar el volumen nuclear de los hepatocitos, su relación núcleo citoplasma y la densidad nuclear, ya que permitirán inferir dos procesos: el incremento de la demanda metabólica y la tendencia a la proliferación de los hepatocitos (mitosis). Algunos hepatocitos duplican el material nuclear y se visualizan tetraploides y poliploides. Otra característica es, división del material genético, sin la correspondiente división del citoplasma, lo cual origina, células binucleadas en el tejido hepático (amitosis) (Moreno *et al.*, 2006).

En las ratas tratadas con atorvastatina durante seis meses, se observaron hepatocitos binucleados con mayor frecuencia que en las muestras histológicas de las ratas controles (Figura 11A). Los hepatocitos tenían tamaños y formas variables en las ratas tratadas con atorvastatina. Los núcleos de los hepatocitos, no presentaron una apariencia uniforme. Los nucleolos estaban difusos y algunos fragmentados (Figura 11A).

El tiempo de inicio de toxicidad hepática de atorvastatina, varía de un individuo a otro. Usualmente esta verificación se lleva por el análisis de enzimas hepáticas. Existe un rango de latencia que puede ir de 34 días a más de 10 años, una media de 464 días y una mediana de 155 días. En un estudio de 22 pacientes con insuficiencia hepática clínica, la latencia varió en

el grupo, yendo de 1 a 3 meses en 27%, 3 a 6 meses en 27%, 6 a 12 meses en 23% y más de un año en 23%. Ninguno de los pacientes se vio afectado con un uso de atorvastatina de cuatro semanas (Russo *et al.*, 2014). Las ratas de este estudio estuvieron sometidas a seis meses con atorvastatina y aunque no se midieron las enzimas hepáticas, si se observaron modificaciones a nivel histológico, con respecto al grupo control.

Los medicamentos asociados con una latencia prolongada (nitrofurantoína, minociclina, metildopa), presentan un síndrome parecido a hepatitis crónica. La latencia prolongada se observa con la mayoría de las estatinas (incluida, atorvastatina). Los daños hepáticos reportados son insuficiencia hepatocelular y colestásica (Russo *et al.*, 2009; Björnsson *et al.*, 2012).

Las ratas empleadas en este estudio fueron ratas normolipémicas. Sin embargo, en un estudio histopatológico del hígado en ratas diabéticas, el uso de atorvastatina, produjo degeneración grasa grave y vacuolización. Las ratas diabéticas tratadas con 10 o con 20 mg/kg de atorvastatina, presentaron necrosis, kariopkinesis, infiltrado inflamatorio y hemorragia difusa, con lo cual concluyeron que el uso de atorvastatina en ratas diabéticas causa mayor daño hepático, que beneficio (Shu *et al.*, 2016).

En este trabajo, después de la administración de atorvastatina las ratas tuvieron un promedio de 142,4 hepatocitos binucleados, mientras que, las ratas controles tenían 25,4 hepatocitos binucleados. Hay un evidente incremento de la división celular hepática, en las ratas tratadas con atorvastatina (Tabla 4). El estatus poliploide de los hepatocitos, indica un aumento del requerimiento metabólico en el hígado (Vinogradov *et al.*, 2001). La presencia de células poliploides tiene un alto impacto en la expresión

basal de genes (Kreutz *et al.*, 2017). Puede ser, producto de la escasa presencia de lípidos, en el torrente sanguíneo de las ratas tratadas con atorvastatina, razón por la cual, el hígado, hace un esfuerzo metabólico mayor, para compensar la deficiencia lipídica.

Tabla 3. Características histológicas de las muestras hepáticas analizadas en especímenes de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley controles y tratados con atorvastatina durante seis meses

Histología	Ratas controles	Ratas con atorvastatina
Hepatocitos	Uninucleares	Binucleados
Vacuolización	Ausente	Presente
Granularidad	Ausente	Presente
Células de Kupffer	Escasas	Abundantes
Sinusoides	Sin dilatar	Dilatados
Colestasis	Ausente	Presente

La alteración de la expresión génica, produce cambios de la vía oxidativa a anaeróbica, en tejidos poliploides como el hígado (Anatskaya and Vinogradov, 2007), para proteger a las células de la apoptosis relacionada al estrés, el daño al ADN, la hipoxia y las ROS, promoviendo el mantenimiento de las funciones específicas del tejido y la sobrevivencia de las células (Anatskaya and Vinogradov, 2010). En este trabajo se encontraron hepatocitos poliploides tanto en el área periportal como pericentral, de las ratas tratadas con atorvastatina, así como en otro trabajo (Kreutz *et al.*, 2017). Ellos sugieren que el estatus poliploide puede implicar un nivel de heterogeneidad biológica de los hepatocitos, lo cual es crítico para la función del parénquima hepático (Kreutz *et al.*, 2017).

La diferencia de las varianzas, al igual que la diferencia de medias (por la prueba T de Student) provenientes del grupo de ratas control versus el grupo de ratas que recibió atorvastatina es significativa ($p=0.033$ y $p=0.000$,

respectivamente). Por lo tanto, las diferencias observadas sobre los hepatocitos binucleares, debido al efecto de administrar atorvastatina, no parece ser debida al azar.

Tabla 4. Número de hepatocitos binucleares en los especímenes de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley controles y tratados con atorvastatina durante seis meses

Rata	Ratas controles	Ratas con atorvastatina
1	23	152
2	29	131
3	25	141
4	23	138
5	27	150

Todo parece indicar que atorvastatina tiene un efecto significativo sobre el hígado, específicamente sobre los hepatocitos binucleares, los cuales, representan células inmaduras que no han completado su proceso de división citoplasmática (citocinesis) (Guidotti, *et al.*, 2003). En condiciones fisiológicas, los hepatocitos binucleares, no se encuentran en gran número, pero aquí, se presentan en grandes cantidades en las ratas tratadas con atorvastatina.

La poliploidía hepática, (presencia de más de un núcleo en los hepatocitos), puede ocurrir en ratones, por el progreso del envejecimiento, por estrés, por toxicidad, sobrecarga metabólica o daño oxidativo. Generalmente, se considera un indicador terminal de diferenciación o senescencia celular, relacionado con la disfunción de insulina y vías de señalización p53/p21. La presencia de hepatocitos binucleados, está involucrada en enfermedades hepáticas (Wang *et al.*, 2017).

Después de una inyección única intraperitoneal de medicamentos (Fenilbutazona-Furosemida o Fenilbutazona-Furosemida-Dexametasona), en especímenes machos de ratas de la especie *Mus musculus*, aproximadamente de 450 grs y una espera de 96 horas post-tratamiento, se sacrificaron las ratas, para hacer estudios histológicos y verificar el impacto de los medicamentos en los tejidos. Las ratas tratadas con Fenilbutazona-Furosemida, presentaron degeneración grasa hepática moderada, hemorragia hepática y necrosis centroacinar focalizada. En el tracto digestivo, presentaron erosión focalizada, hiperqueratosis marcada, infiltrado inflamatorio linfocitario y colitis leve linfocitaria. En las ratas con Fenilbutazona-Furosemida-Dexametasona, se reportó degeneración grasa hepática moderada, necrosis con patrón centroacinar focal y periacinar severo, hemorragia hepática marcada. En el tracto gastrointestinal, erosión focal e hiperqueratosis severa, además de colitis leve linfocitaria (Morales *et al.*, 2009).

A diferencia de ese trabajo, las ratas tratadas en este estudio, recibieron atorvastatina durante seis meses consecutivos, sin ningún día de interrupción. En las ratas si se observó degeneración grasa microvesicular en el hígado.

En el Bioterio de la universidad de Carabobo, se trabajó con 20 ratas hembras Sprague Dawley, de las cuales 10 fueron para el grupo control y 10 ratas para el de tratamiento con hojas de higuera; a dichas ratas, se les suministró una infusión de hojas de *Ficus carica* durante siete días sucesivos. Luego de un período de ayuno de 14 horas, las ratas fueron sacrificadas y se tomaron muestras de hígado. Las ratas controles no presentaron alteraciones histológicas aparentes en el hígado, no obstante, las que recibieron la infusión de hojas de higuera, presentaron sinusoides hepáticos colapsados

por congestión vascular moderada. En las ratas tratadas, los hepatocitos eran binucleados, presentando un promedio de 57,8 células binucleadas, mientras que las ratas controles tenían 27,4 hepatocitos binucleados (Alvarado-Rico and Castro, 2010). En las ratas tratadas con atorvastatina, el número de hepatocitos binucleados, es muy superior al indicado en ese trabajo.

Todas las membranas biológicas del cuerpo, están formadas por lípidos (esteroles, glicerofosfolípidos, glicoglicerolípidos y esfingolípidos) (Krause and Regen, 2014), y las estatinas impiden su síntesis (Stancu and Sima, 2001). Las células del epitelio intestinal y del hígado, requieren lípidos para su constitución fisiológica, por lo tanto, se puede decir que, las ratas que han sido sometidas a tratamiento continuo con atorvastatina, pueden presentar deterioro hepático e intestinal a nivel estructural, debido al uso prolongado de esta estatina. Además, que está demostrado científicamente, que el órgano blanco de las estatinas es el hígado (Stancu and Sima, 2001).

Cuando se hizo la disección abdominal de las ratas del grupo control, se observó macroscópicamente, grasa abdominal, mientras que en las ratas tratadas con atorvastatina durante seis meses, no presentaron rastros visibles de grasa abdominal. Sin embargo, en el estudio microscópico, se observó daño intestinal y hepático en las ratas tratadas con atorvastatina, muy probablemente, a causa de la ausencia de colesterol, el cual es necesario para la constitución de las membranas celulares y el desarrollo de los diferentes tejidos.

El colesterol, representa 30% de los lípidos totales de las membranas celulares, según el modelo de Singer-Nicolson (Krause and Regen, 2014). Las estatinas, no deberían ser empleadas por largos períodos, porque

interfieren de forma indirecta, con procesos claves del organismo, ya que no solo las membranas celulares tienen colesterol, sino que, además, hay hormonas esteroideas (glucocorticoides, mineralocorticoides, progestágenos, estrógenos y andrógenos) y sales biliares conformadas por colesterol (Berg *et al.*, 2002). Uno de los hallazgos fortuitos de este estudio, fue la disminución del tamaño de los testículos de las ratas con atorvastatina. Sería interesante hacer estudios de hormonas esteroideas en ratas bajo administración de estatinas, para ver si hay variabilidad en ratas machos.

En este estudio, las ratas tratadas con atorvastatina (Tabla 5), presentaron un número aumentado de células de Kupffer. La activación de las células de Kupffer, es una consecuencia de la lesión de los hepatocitos en inflamación crónica del hígado. Estas células de Kupffer también desempeñan importantes funciones protectoras en el inicio de la proliferación de hepatocitos en respuesta a la lesión hepatotóxica, así como en la resolución de cicatrices fibróticas (Taub, 2004). La degeneración de los hepatocitos, produce un aumento de la citokina (TGF- β) involucrada en la activación de las células estrelladas hepáticas (Friedman, 2008). La cuantificación de las células de Kupffer es importante, porque existe un nexo entre su aumento y las señales de procesos de reparación o patológicos en el hígado. Se ha demostrado que su activación ocurre ante diferentes procesos de estrés y lesiones (Dixon *et al.*, 2013).

La diferencia de las varianzas, al igual que la diferencia de medias (por la prueba T de Student) provenientes del grupo de ratas control versus el grupo de ratas que recibió atorvastatina es significativa ($p=0.012$ y $p=0.000$, respectivamente). Esto permite concluir, que, las diferencias en el número de células de Kupffer, observadas por administrar atorvastatina durante seis meses, a las ratas de estudio, no es un efecto fortuito.

Tabla 5. Número de células de Kupffer en los especímenes de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley controles y tratados con atorvastatina durante seis meses

Rata	Ratas controles	Ratas con atorvastatina
1	145	201
2	140	221
3	143	219
4	139	205
5	150	202

Las células de Kupffer, son macrófagos, que se encuentran en el hígado, para eliminar los patógenos de la circulación sanguínea. También actúan contra sustancias inmunoreactivas, alcohol, drogas y toxinas, que ingresan por la circulación portal, para inhibir la inflamación, debida por la presencia de dichas sustancias, las cuales pueden destruir los sinusoides hepáticos (Naito *et al.*, 2004).

En este caso particular, el aumento del número de células de Kupffer, puede deberse al daño que produce atorvastatina en la estructura hepática, por la falta de lípidos para la constitución de las células, a nivel de membranas nucleares y citoplasmáticas.

Pacientes con la enfermedad de Wilson (enfermedad recesiva autosómica), tienen células de Kupffer aumentadas y fibrosis pericelular (Johncilla and Mitchell, 2011). La activación inflamatoria de las células de Kupffer, juega un rol en la toxico-inmunogénesis del daño hepático de la enfermedad de Wilson (Sandahl *et al.*, 2014), como es el caso de los pacientes con cirrosis alcohólica y no alcohólica (Kazankov *et al.*, 2016). Las células CD163 son un linaje de marcador específico de activación celular (Kazankov *et al.*, 2015). Los pacientes que muestran activación de las células

Kupffer están estrechamente relacionados con pérdida de la función metabólica hepática (Björklund *et al.*, 2018). Es muy probable que las ratas tratadas con atorvastatina tengan deficiencia hepática, lo cual debe ser verificado.

La inflamación (en general), es una respuesta adaptativa a una infección, lesión o exposición a sustancias tóxicas, para restablecer la homeostasis. Cuando se logra el equilibrio fisiológico, se elimina la respuesta inflamatoria, por lo que el sistema inmune regresa a su estado base. Cuando eso no ocurre, se produce un estrés celular muy alto y el tejido permanece en inflamación crónica (Medzhitov, 2008).

En los procesos inflamatorios hepáticos, las células de Kupffer inducen cambios en las vías metabólicas de los lípidos en los hepatocitos, por la liberación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (Huang *et al.*, 2010). Visto el incremento de las células de Kupffer en las ratas tratadas con atorvastatina, por el uso de un medicamento para controlar la producción de lípidos a nivel hepático, hay un serio desequilibrio en la producción de lípidos en esas ratas, lo cual impide el buen funcionamiento de las células, ya que todas necesitan de lípidos para su constitución.

VIII.3 Eficiencia de asimilación de materia orgánica en las ratas:

Las heces de las ratas controles, eran más voluminosas que las heces de las ratas tratadas con atorvastatina. En promedio, las heces de las ratas controles, pesaban 91.21 mg, mientras que las heces de las ratas tratadas con atorvastatina pesaban 33.45 mg. Esta diferencia, entre el tamaño de las heces en ambos grupos, se acentuó al final de la investigación. Al principio, ambos grupos defecaban volúmenes parecidos; con el transcurrir de los

meses, las heces de las ratas tratadas con atorvastatina fueron disminuyendo su tamaño. Tanto el grupo control como el grupo bajo tratamiento con atorvastatina, recibían la misma cantidad y el mismo tipo de alimento por jaula. En la tabla 6, se puede observar que el porcentaje de asimilación varió en las ratas controles (87%) con respecto a las que estaban bajo tratamiento con atorvastatina (54%). Las ratas bajo tratamiento tienen un porcentaje de asimilación bajo. Se pudo observar, que las ratas con atorvastatina, eran menos voluminosas que las ratas controles (Datos no mostrados). En este estudio, la malabsorción en las ratas tratadas con atorvastatina durante seis meses, que se traduce como el bajo rendimiento en la eficiencia de asimilación, no viene por problemas genéticos, sino por deterioro adquirido en la superficie de absorción del epitelio intestinal.

No se observaron diferencias significativas entre el grupo de ratas control y el grupo de ratas que recibieron atorvastatina para las variables: de Materia orgánica ingerida ($p=0.250$), peso total de las heces ($p=0.079$), peso seco de las heces ($p=0.066$) ni el porcentaje de asimilación de las ratas ($p=0.139$). Solo se observaron diferencias significativas entre las varianzas del grupo de ratas control y el grupo de ratas que recibieron atorvastatina para la variable de Materia orgánica en las heces ($p=0.028$) con un valor significativo para la prueba t ($p=0.015$). Por lo tanto, en este caso las diferencias observadas debido al efecto de aplicar atorvastatina durante seis meses sobre las ratas, no parece ser debido al azar.

Independientemente de que no haya diferencia estadísticamente significativa en los porcentajes de asimilación entre los dos grupos de estudio, si hay una evidencia clínicamente relevante, ya que las ratas bajo tratamiento con atorvastatina, eran más pequeñas, los pesos de sus materias

fecales eran evidentemente diferentes, siendo los de las ratas bajo tratamiento muchos más pequeños.

Tabla 6. Comparación del porcentaje de asimilación de especies de *Rattus norvegicus* Sprague Dawley machos sin y bajo tratamiento con atorvastatina durante seis meses.

Animal	Alimento ingerido (gr)	Peso seco ingerido (gr)	Materia orgánica ingerida (gr)	Peso total heces (gr)	Peso seco de las heces (gr)	Materia orgánica de las heces (gr)	Porcentaje de asimilación de las ratas (%)
RC1	0.5033	0.4979	12.35	0.8389	0.7979	1.91	84
RC2	0.4995	0.4952	12.50	0.9995	0.9505	1.6	87
RC3	0.4979	0.4951	18.89	0.8979	0.8460	1.7	91
RAT1	0.5953	0.5503	13.07	0.3429	0.3009	5.5	57
RAT2	0.5191	0.4761	17.31	0.3309	0.2980	9.8	43
RAT3	0.5373	0.4953	16.51	0.3299	0.2839	6.2	63

RC: rata control. RAT: rata con atorvastatina.

El intestino de las ratas con tratamiento, está estructuralmente destruido, cosa que no se observa en las ratas controles, por lo tanto, la población de bacterias que conforman la microbiota, en las ratas con tratamiento, no está ni en la cantidad ni en la calidad que debería estar. Está demostrado científicamente, que la microbiota juega un papel muy importante en la digestión y absorción de los nutrientes.

No existe un término único, para describir la proporción de alimentos ingeridos que se convierte en energía o nutrientes utilizables para un ser vivo (Castro *et al.*, 1989; Karasov, 1990; Robbins, 1993; Klasing, 1998), por lo que en la literatura se expresa como eficiencia de asimilación, eficiencia de utilización, eficiencia digestiva, coeficiente de utilización metabólica, coeficiente de metabolizabilidad o digestibilidad, entre muchos otros. Con este parámetro, lo que se busca es, describir la cantidad de materia, energía o nutrientes ingeridos, que son capaces de ser digeridos. En ningún momento, refleja la fracción que se incorpora al tejido corporal (Bairlein, 1999).

Por ello, la fisiología digestiva es importante para los ecologistas. Un tema central es la medida en que el procesamiento digestivo influye en la dieta frente a la medida en que la dieta influye en el procesamiento digestivo (Bairlein, 1999).

Los cambios de la microbiota intestinal (disminución de la diversidad), producen una alteración metabólica importante, así como la disminución de ácidos grasos de cadenas cortas (David *et al.*, 2014; Leone *et al.*, 2015). Vale recalcar, que la microbiota intestinal se encuentra principalmente en el intestino grueso. No obstante, es en el intestino delgado, donde se digieren los macronutrientes y la energía (Martínez-Guryn *et al.*, 2018), se llevan a cabo interacciones complejas entre señales dietéticas, se libera la bilis, ocurre la respuesta endocrina intestinal, la función exocrina del páncreas y la absorción en los enterocitos, por lo que es fundamental, una buena estructura histológica. A diferencia del intestino grueso, que posee una microbiota muy abundante (10^{12} UFC por gramo), el intestino delgado alberga una comunidad microbiana compleja, pero menos diversa y abundante (10^3 -

10⁷ UFC por gramo) que la microbiota colónica (El Aidy *et al.*, 2013; Donaldson *et al.*, 2015).

Es posible que dicha disimilitud, sea por la presencia de un pH ácido, un tránsito rápido, ácidos biliares y péptidos antimicrobianos (Angelakis *et al.*, 2015; Donaldson *et al.*, 2015). En este tramo intestinal, predominan los Firmicutes y Proteobacterias, mientras que, en el colon, los Bacteroidetes (Turnbaugh *et al.*, 2009; Angelakis *et al.*, 2015; Donaldson *et al.*, 2015).

Hay evidencias científicas que confirman que la microbiota del intestino delgado, tiene un rol fundamental en la absorción de los nutrientes. Ratones gnotobióticos, tienen altos niveles de lípidos fecales (Rabot *et al.*, 2010). En otro estudio con Zebrafish libres de microbiota intestinal, presentan una cantidad elevada de ácidos grasos de cadenas cortas (AGCC) bajo regímenes alimentarios ricos en grasa (Semova *et al.*, 2012). Ratas tratadas con antibióticos, poseen concentraciones escasas de lípidos linfáticos (Sato *et al.*, 2016). Las ratas tratadas con atorvastatina, no pueden tener la microbiota del intestino delgado en equilibrio, porque la estructura histológica está fuertemente deteriorada. Y un intestino delgado sin microorganismos está metabólicamente alterado (Rabot *et al.*, 2010).

La microbiota del intestino delgado, alojada en la mucosa intestinal, es altamente sensible a la dieta y juega un rol importante, en la asimilación de nutrientes, particularmente en la regulación fisiológica o patológica, de las vías de digestión y absorción de lípidos. Su impacto es muy importante, a pesar de su pequeña representación en esta porción del intestino, porque está más próxima en tiempo y exposición a los nutrientes de la dieta ingerida y afecta dramáticamente su composición (Martínez-Guryn *et al.*, 2018).

La microbiota del duodeno es altamente inestable por el ambiente, ya que recibe un flujo directo de secreciones pancreáticas y ácidos biliares. En el yeyuno, la absorción todavía es alta en esta sección y se desarrollan interacciones importantes entre el hospedero y la microbiota. Los residuos de la dieta tienen un alto impacto en la formación de la microbiota y su composición, regula la digestión y absorción de los macronutrientes, conllevando al hospedero a obesidad o malnutrición, dependiendo del desbalance de la microbiota, si hay exceso o carencia de ciertas especies microbianas. En esos casos, la reestructuración de la microbiota del intestino delgado, es imperativa, para aumentar o disminuir el transporte y absorción de lípidos (Martínez-Guryn *et al.*, 2018).

Ratones gnotobióticos presentan altas concentraciones de triglicéridos en heces (Rabot *et al.*, 2010), así como, el transporte reducido de lípidos en el sistema linfático en ratas tratadas con antibióticos (Sato *et al.*, 2016). Ambos estudios demuestran la importancia de la microbiota a nivel del intestino delgado, para la digestión y absorción de nutrientes.

En ratones gnotobióticos, con una función digestiva alterada, implica que hay un transporte reducido de ácido oleico, a nivel de la membrana del borde en cepillo del intestino (Martínez-Guryn *et al.*, 2018), con lo cual, realmente, la microbiota del intestino delgado, cumple una función importante, no solo localmente, sino en órganos extraintestinales, como el páncreas (El Aydi *et al.*, 2013).

En un estudio realizado en abulones, en China, se demostró que la eficiencia alimentaria de estos frutos del mar, dependía en gran grado de la microbiota intestinal, el metaboloma y las enzimas digestivas. En el grupo de una eficiencia alimentaria alta, comparado con el de eficiencia alimentaria

baja, se observó una diferencia marcada en la microbiota intestinal de los abulones con baja eficiencia alimentaria, así mismo, la diversidad microbiana, en los abulones con alta eficiencia alimentaria, fue mucho mayor en este último grupo. Un hallazgo interesante a nivel de producción enzimática digestiva, fue el encontrado en una microbiota conformada por *Cobetia* y *Pseudoalteromonas*. De hecho, los marcadores microbianos para distinguir la eficiencia alimentaria, son *Saprospira*, *Rhodanobacteraceae*, *Llumatobacteraceae* y *Gaiellales*. Este estudio demuestra, cómo la modulación intestinal, puede mejorar la eficiencia alimentaria en el sector de la acuicultura (Yu *et al.*, 2022).

Otra forma de calcular la eficiencia o porcentaje de asimilación, es pesando los animales al inicio del experimento y al finalizar el mismo, para conocer el impacto del tratamiento sobre la asimilación de nutrientes o energética (Gong *et al.*, 2016). Aunque en este trabajo esto no se realizó, si se evidenció una disminución importante en el peso de las ratas tratadas con atorvastatina, con respecto a las ratas controles. Con lo cual, las ratas tratadas con atorvastatina eran más pequeñas y delgadas que las ratas controles.

Por otro lado, se observó que la grasa epididimal de las ratas disminuía en comparación con las ratas que tenían una baja eficiencia energética, más que un bajo consumo energético (Gong *et al.*, 2016). En este trabajo, las ratas tratadas con atorvastatina, tenían menos grasa epididimal. No se pesaron los testículos y mucho menos la grasa epididimal, pero se evidenció una disminución testicular de las ratas tratadas con atorvastatina, al momento de sacrificarlas para hacer la extracción de los intestinos y el hígado.

Los dos grupos de ratas de este trabajo fueron sometidos al mismo manejo experimental, con respecto al ambiente, tipo y cantidad de alimentación. Sin embargo, son irrefutables, los cambios ultraestructurales y físicos observados en las ratas tratadas con atorvastatina, con respecto al grupo control.

En un estudio realizado en Croacia, las ratas machos Wistar controles tenían un promedio de 1.21 gr de materia fecal (Pirman *et al.*, 2006). A diferencia de las ratas controles de este estudio, no llegaban al gramo ninguna de las materias fecales (Tabla 6). La disparidad puede radicar en el tipo de alimentación, ya que, a mayor contenido de fibra, aumenta el volumen de la materia fecal. En dicho estudio, las ratas que fueron alimentadas con salvado de trigo, tuvieron materias fecales de 2.49 gr (Pirman *et al.*, 2006). En ratas con intestino intacto, el aumento o disminución del volumen de la materia fecal, se ve alterado por humedad en las heces, fibra insoluble en las heces (Pacheco-Delahaye, 1999), y contenido de microbiota (Stephen and Cummings, 1980).

En el estudio de la diversidad de la microbiota intestinal de abulones, se observó que, la reducción de la diversidad microbiana, es un fuerte indicio, de condiciones intestinales no fisiológicas, lo cual contribuye a un bajo porcentaje de asimilación, el cual no depende de la cantidad de alimento ingerido, sino de su digestión y posterior absorción (Yu *et al.*, 2022). Sin embargo, no todo está perdido, porque el suministro de probióticos en dichos animales, restituye la asimilación, porque aumenta la diversidad (Zhao *et al.*, 2018; Bergamaschi *et al.*, 2020).

En estudios experimentales con *Daphnia*, se administró trimetoprim, para verificar el impacto sobre la microbiota y la nutrición; veinticuatro horas

después, la microbiota había sido disminuida, al mismo tiempo que, la eficiencia de incorporación de nutrientes (Gorokhova *et al.*, 2015). En este estudio, con las ratas tratadas con atorvastatina, no se administraron antibióticos, sin embargo, si hay una disminución importante de la microbiota intestinal, no solo a nivel de colon, sino de todo el intestino delgado, por la desaparición de las vellosidades, lo cual refleja un impacto directo sobre el peso y tamaño de las ratas. Una comunidad bacteriana simplificada, controla la complejidad natural del ambiente intestinal (Gorokhova *et al.*, 2015).

En la tabla 7, se puede observar que la cantidad de bacterias presentes en las ratas tratadas con atorvastatina, fue menor que en las ratas controles. Las ratas bajo tratamiento con estatinas, tienen, no solo disminución del número total de bacterias, sino que además presentan, disbiosis. La disbiosis intestinal está asociada con enfermedades intestinales, como los procesos inflamatorios, el cáncer colorectal, enfermedades metabólicas y neurológicas (Zheng *et al.*, 2018). En este estudio, se demostró alteración inflamatoria de la estructura de la mucosa intestinal, tanto de intestino delgado como grueso.

No se observaron diferencias significativas entre el grupo de ratas control y el grupo de ratas que recibieron atorvastatina para las variables: cantidad de bacterias por gramo de heces y peso de la materia fecal. Es importante destacar, que la población o carga bacteriana en las heces de las ratas con tratamiento, cayó 70%. Independientemente, de que no sea estadísticamente significativo, si hay una marcada diferencia porcentual, que altera el metabolismo de esas ratas.

Un intestino sin vellosidades, es un intestino que no puede albergar una microbiota estable, ya que incluso, hay ausencia de las células caliciformes,

que son las encargadas de producir el moco, al cual se adhieren las bacterias, para permanecer en el intestino y no ser eliminadas con el tránsito intestinal de los alimentos y las diferentes secreciones que ahí se vierten, como los ácidos biliares, las secreciones pancreáticas, gástricas e intestinales (Strasinger and Di Lorenzo, 2010).

Tabla 7. Valor teórico del volumen de bacterias en la masa fecal de las ratas controles y con tratamiento de atorvastatina.

Ratas	Cantidad de bacterias por gr de heces^º	Gramos de materia fecal
VR	4 x 10¹¹	1
RC1	3.19 x 10¹¹	0.7979
RC2	3.8 x 10¹¹	0.9505
RC3	3.38 x 10¹¹	0.8460
RT1	1.2 x 10¹¹	0.3009
RT2	1.19 x 10¹¹	0.2980
RT3	1.13 x 10¹¹	0.2839

VR: Valor referencial (Stephen and Cummings, 1980). ^ºUFC (unidades formadoras de colonias). RC: Rata control. RT: Rata bajo tratamiento.

La identificación de todos los miembros de la microbiota intestinal (secuenciación masiva de la microbiota), puede no ser accesible para determinar la disbiosis y reconocer cómo restablecer la salud de los seres vivos, no obstante, se pueden identificar algunos metabolitos microbianos, como arginina, L-carnitina, citrato, glutamato, glutamina, lactato, succinato o taurina (Yu *et al.*, 2022). Las diferencias en las vías metabólicas de

aminoácidos y ácidos grasos (metaboloma), están relacionadas con la deficiencia del porcentaje de asimilación (Yu *et al.*, 2022). Algunos metabolitos, reducen el estrés oxidativo, porque controlan las ROS, impidiendo el daño a nivel intestinal (Beloborodova *et al.*, 2012).

Los procesos inflamatorios crónicos de bajo grado, tienen un efecto sobre la conformación de la microbiota intestinal (Krajmalnik-Brown *et al.*, 2012). Si bien es cierto que la microbiota es la responsable de la homeostasis, también es cierto que no depende únicamente de la microbiota, porque esta se ve alterada por varios factores como el pH, la concentración de oxígeno, exposición a las secreciones intestinales y la alimentación (Ley *et al.*, 2008). Por lo general, una microbiota en eubiosis, está conformada 90% por filotipos de Bacteroidetes y Firmicutes y en menor grado, *Methanobrevibacter smithii* (Eckburg *et al.*, 2005). La microbiota intestinal varía a lo largo del intestino en cantidad y en calidad, debido a que las condiciones ambientales cambian, desde el extremo más proximal al más distal, hay una clara transición de microorganismos aeróbicos a anaeróbicos (Berg, 1996). La estabilidad intraindividual de la microbiota intestinal, difiere por la composición luminal de cada intestino (heces) y epitelial (mucosa) (Eckburg *et al.*, 2005).

Los monosacáridos son absorbidos por los transportadores de monosacáridos ubicados en el epitelio intestinal (Hooper *et al.*, 2001, Backhed *et al.*, 2004). La absorción de AGCC es un proceso eficiente que involucra la difusión pasiva y el intercambio de iones (McNeil 1978, Fleming *et al.*, 1991). Esos AGCC se emplean como energía por los colonocitos e incluso otros tejidos, para metabolismos posteriores (Wong *et al.*, 2006). El butirato es el AGCC preferido por las células epiteliales del colon, para su desarrollo (McNeil *et al.*, 1984; Cook and Sellin, 1998). El propionato, se

absorbe por los colonocitos y se transporta hacia el hígado (Reilly and Rombeau, 1993), donde se llevarán a cabo los procesos de gluconeogénesis y se regulará la síntesis del colesterol (Venter, 1990; Reilly and Rombeau, 1993). El acetato está ampliamente disponible en sangre, como fuente de energía para todos los tejidos periféricos, para la lipogénesis y la síntesis de colesterol (Bergman 1990, Cook and Sellin, 1998). En un intestino saludable, los AGCC absorbidos en el colon, proporcionan entre 6 a 10% de las necesidades energéticas corporales (McNeil *et al.*, 1978, Bergman, 1990).

Los microorganismos del intestino producen una gran variedad de enzimas para metabolizar proteínas e hidratos de carbono (Sonnenburg *et al.*, 2005; Tilg *et al.*, 2009). *Bacteroides thetaiotaomicron*, sintetiza 226 glucósido hidrolasas y 15 polisacárido liasas, muchas más que las producidas por el cuerpo humano (Xu *et al.*, 2003; Sonnenburg *et al.*, 2005). Estas enzimas producidas por los microorganismos, son las que permiten obtener nutrientes de fuentes vegetales. El microbioma intestinal, colabora en el metabolismo del almidón, arabinosa, fructosa, fucosa, glucosa, galactosa, manosa, sacarosa y xilosa. Así mismo, se encarga de eliminar los xenobióticos en el intestino (Gill *et al.*, 2006). Cuando el intestino está en disbiosis, es muy difícil que esto se cumpla a cabalidad y es el caso de las ratas tratadas con atorvastatina, por todo lo antes expuesto.

Los microorganismos son los que controlan el metabolismo de los monosacáridos y AGCC, para mantener el equilibrio energético (Xu *et al.*, 2003), al estimular la producción de triglicéridos (lipogénesis) (Cook and Sellin, 1998, Towle, 2001). Los triacilgliceroles sintetizados a nivel hepático, son vertidos a la sangre, como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y quilomicrones, cuando hay un desbalance, es cuando se genera la resistencia a la insulina (Krajmalnik-Brown *et al.*, 2013).

En un intestino lesionado, estos procesos son imposibles de realizar, ya que los AGCC, interactúan como moléculas de señalización para acoplarse con receptores ubicados en los adipocitos y epitelio intestinal (Brown *et al.*, 2003, Xiong *et al.*, 2004). La microbiota no ocupa simplemente un espacio en el intestino, sino que establece una comunicación con el hospedero a través del receptor Gpr41. En estudios experimentales en ratones, los que carecen de dicho receptor, pesan menos (Samuel *et al.*, 2008). Es muy probable, que esta sea una de las causas por las cuales, las ratas tratadas con atorvastatina, eran menos pesadas que las controles, por lo tanto, una microbiota intestinal en equilibrio (eubiosis), contrarresta la desnutrición.

VIII.4 Colonización intestinal de *Escherichia coli* y *Enterococcus*:

En los medios de cultivo EMB, se pudo observar, que, durante los seis meses de estudio, en las ratas controles, hubo crecimiento abundante de colonias de *E. coli* en los cuatro cuadrantes (Figura 12), sin variabilidad del tamaño de las colonias en un período de incubación de 24 horas a 35°C; no obstante, en las ratas bajo tratamiento con atorvastatina, si se observó que el primer mes de tratamiento hubo crecimiento en los cuatro cuadrantes (Figura 12), menor al observado en las ratas controles, sin embargo, a partir del segundo mes de tratamiento, el crecimiento bajó a solo dos cuadrantes y el tamaño de las colonias se redujo. Aunque el crecimiento se mantuvo durante los meses 2 al 6 del estudio en dos cuadrantes, la cantidad de colonias presentes en los dos cuadrantes siempre fue en disminución.

Cuando bacterias Gram negativas se exponen *in vitro*, a las estatinas, las que más actividad presentan son atorvastatina y simvastatina. *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *E. cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Proteus mirabilis* de la microbiota intestinal; *Haemophilus*

influenzae y *Moraxella catarrhalis*, de la microbiota nasofaríngea; *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* de la microbiota bucal; y *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Salmonella Typhimurium*, del ambiente (Ko et al., 2017).

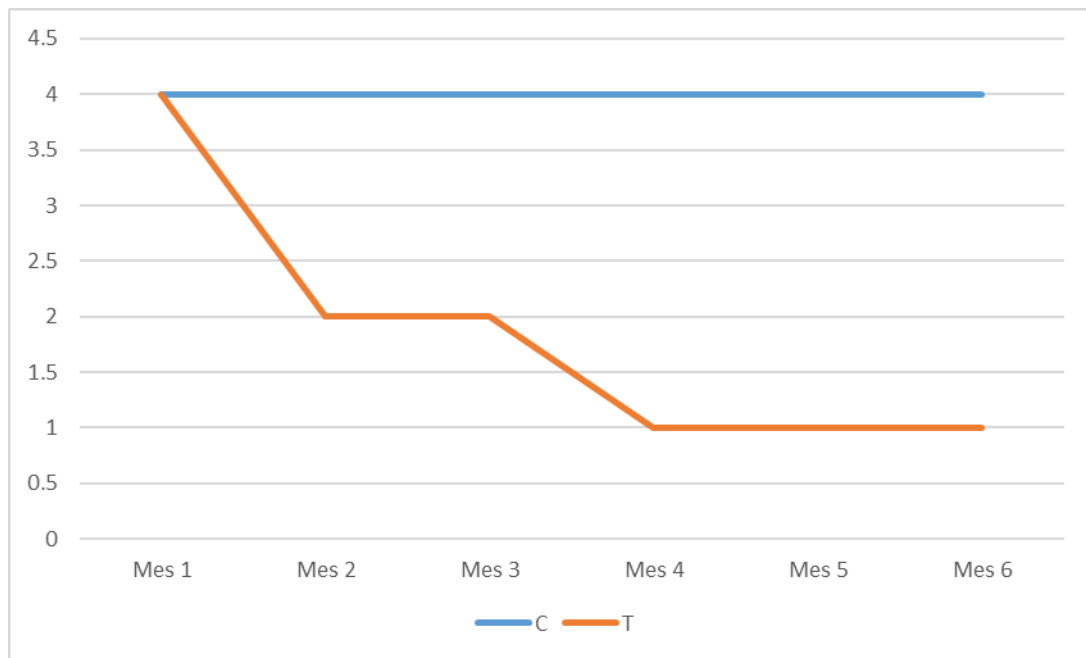


Figura 12. Proporción de UFC de *Escherichia coli* en los cuadrantes de las placas de Petri, provenientes del intestino de las ratas

Línea azul: ratas del grupo control. Línea anaranjada: ratas bajo tratamiento con atorvastatina. En el eje de la X están los meses de estudio. En el eje de la Y están los cuadrantes de la placa de Petri.

Las estatinas no parecen ejercer su efecto antimicrobiano por la vía de inhibición de la ruta metabólica de los lípidos. Las bacterias Gram negativas, como *E. coli* o *P. aeruginosa*, sintetizan los isoprenoides por una vía metabólica alterna, que es la ruta 2C-methyl-D-erythritol 4-phosphate o MEP, la cual no requiere HMG-CoA reductasa (Heuston et al., 2012), y a pesar de ello, varias estatinas, como atorvastatina, rosuvastatina e incluso

simvastatina, tienen actividad antimicrobiana sobre varias bacterias Gram negativas (Ko *et al.*, 2017). Hay que recordar que las estatinas que contienen un grupo lactona, como simvastatina y lovastatina son prodrogas; deben ser metabolizadas para que la fracción activa de ácido dihidroxy pueda inhibir la enzima HMG-CoA reductasa, de lo contrario, serán ineficaces, para controlar el metabolismo lipídico (Harrold, 2013).

Cuando se evalúa la efectividad de las diferentes estatinas, se observa que, de mayor a menor, está en primer lugar pitavastatina, seguida de rosuvastatina, atorvastatina, simvastatina, pravastatina, lovastatina y fluvastatina (Armitage, 2007); en los estudios de susceptibilidad antibacteriana, se ha demostrado que simvastatina tiene mayor efectividad antibacteriana que rosuvastatina, lo cual permite colegir, que la actividad antibacteriana no está relacionada con la inhibición de la HMG-CoA reductasa (Ko *et al.*, 2017).

El estudio de las estructuras químicas de las estatinas con actividad antibacteriana, indica la presencia de dos grupos metilo, los cuales están ausentes en la geometría molecular tetraédrica de las estatinas que carecen de actividad antibacteriana. Es probable que, ocurran interacciones no polares de estos grupos, con la D-Ala-D-Ala de las bacterias Gram positivas (ácidos teicoicos y lipoteicoicos), pero en el caso de las Gram negativas (Xia *et al.*, 2010), la hipótesis es, que se establezcan rupturas de enlaces de hidrógeno en los lipopolisacáridos (Ko *et al.*, 2017). Los efectos bacteriostáticos pueden ocurrir por los enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals que se instauran entre las proteínas de superficie de las bacterias Gram positivas, así como, en los de las bacterias Gram negativas (Malanovic and Lohner, 2016).

En un estudio, se describió ausencia de antígenos de *E. coli* en tejidos del intestino delgado inflamado (Walmsley *et al.*, 1998). No obstante, hay otros reportes, en los cuales el número de *E. coli* se vió aumentado de forma considerable en los tejidos de intestino inflamado de pacientes con enfermedad de Chron, en comparación con controles sanos (Cartun *et al.*, 1993; Liu *et al.*, 1995; Darfeuille-Michaud *et al.*, 1998), así como en enfermedad del intestino inflamado (Tabaqchali *et al.*, 1978). El factor discordante entre este estudio y los reportados anteriormente, es el uso de atorvastatina; el cual puede estar ejerciendo una actividad antimicrobiana, asociada a la pérdida de la estructura tisular dónde adherirse.

A pesar de que no se conoce con exactitud el mecanismo por el cual las estatinas interfieren con el desarrollo bacteriano, tiene que estar relacionado con la estructura de la superficie bacteriana, en la cual están involucrados los ácidos teicoicos y lipoteicoicos (Gram positivos), lipopolisacáridos (Gram negativos), y/o proteínas de superficie (Ko *et al.*, 2017).

Una microbiota alterada con predominio de Proteobacteria (*E. coli*), hace que haya una mayor fermentación de hidratos de carbono, con lo cual, se desarrolla un desequilibrio metabólico en ese hospedero (Elolimy *et al.*, 2019). En las ratas tratadas con atorvastatina, la población de *E. coli*, está disminuida, por lo que no existe una fermentación excesiva de hidratos de carbono.

La presencia de *Escherichia coli* a nivel intestinal es fundamental para sintetizar acetato, 2,3-butanediol, dióxido de carbono, etanol, formato, lactato, 1,2-propanediol, y succinato (Lloyd-Price *et al.*, 2016). Intestinos deficientes de *E. coli*, carecen de dichos metabolitos o son producidos en proporciones

muy bajas, con lo cual, impide alcanzar los beneficios de su presencia, como es el caso de las ratas tratadas con atorvastatina.

En las ratas controles, se aislaron cepas de *Enterococcus* en los cuatro cuadrantes de las placas de agar BHI enriquecidas con 6.5% de NaCl a 42°C durante los seis meses de investigación. En las ratas tratadas con atorvastatina, se vio una disminución del tamaño de las colonias y el crecimiento fue disminuyendo paulatinamente, con el paso de los meses. A veces, había que dejar incubando las placas 48 horas para visualizar el crecimiento de colonias muy pequeñas, de lo contrario, a las 24 horas no se observaba nada sobre el agar.

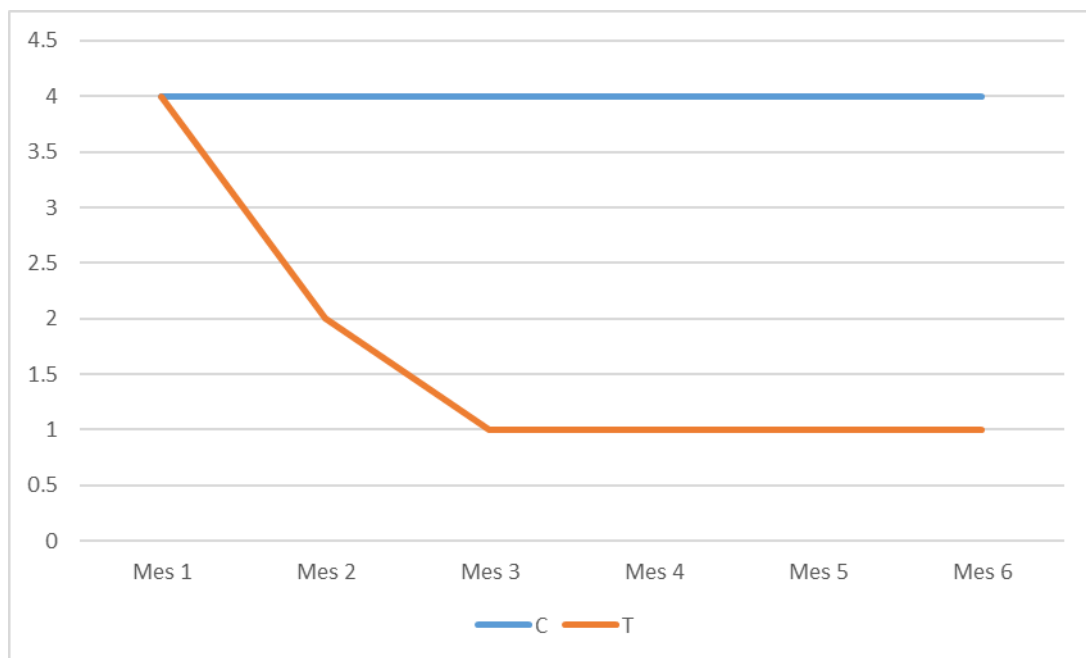


Figura 13. Proporción de UFC de *Enterococcus* spp., en los cuadrantes de las placas de Petri, provenientes del intestino de las ratas

Línea azul: ratas del grupo control. Línea anaranjada: ratas bajo tratamiento con atorvastatina. En el eje de la X están los meses de estudio. En el eje de la Y están los cuadrantes de la placa de Petri.

En un estudio realizado en Australia, se expusieron *in vitro*, cepas de *Enterococcus* a simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina; todas las estatinas tuvieron una actividad antimicrobiana, aunque simvastatina fue la que presentó mayor efectividad. Así como en otras bacterias Gram positivas (*Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus anginosus*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*) (Ko, et al, 2017).

La diferencia química entre simvastatina y lovastatina, es que la primera, tiene un carbono con dos grupos metilo en la cadena lateral del éster, en cambio, la segunda, un solo grupo metilo en el carbono. Esta es quizás la explicación de por qué simvastatina tiene efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (Thangamani et al., 2015). El grupo metilo adicional, puede interferir en la estructura estable de la pared de esta bacteria y por eso, su desestabilización celular, impidiendo, por ende, la división celular (Hanson and Neely, 2012). Esta podría ser la razón, por la cual atorvastatina, entorpecería el crecimiento de las cepas de *Enterococcus* en este estudio.

Este mecanismo, a su vez, impediría la adhesión de las células bacterianas a las superficies, razón por la cual sería imposible desarrollar biopelículas. Esto traería como consecuencia, que bacterias expuestas a estatinas, no podrían formar una microbiota estable en el intestino y tendrían mayor fragilidad bacteriana frente a los antibióticos y péptidos catiónicos (Brown et al., 2013).

Las estatinas tienen la capacidad de cambiar su conformación estructural para unirse a las proteínas, razón por la cual se puede interferir en la estabilidad de las bacterias, sin afectar sus rutas metabólicas, a través del establecimiento de enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals, entre

las estructuras bacterianas de superficie y las estatinas (Gazzerro *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2016). La interacción de las estatinas con las proteínas de superficie de las bacterias Gram positivas, las hace más susceptibles a la fagocitosis (Foster *et al.*, 2014).

Se ha demostrado *in vitro*, que, *S. aureus* y *E. coli* incorporan colesterol exógeno en sus membranas celulares (Eaton *et al.*, 1981; Shine *et al.*, 1993), lo cual hace que, aumente la rigidez de sus membranas y probablemente, reduzca las alteraciones de las estructuras de la superficie celular (Brender *et al.*, 2012). En personas bajo tratamiento con estatinas, este efecto se pierde, y las bacterias se vuelven inestables a los cambios del ambiente, es imposible que colonicen los nichos a los que pertenecen y si son patógenas, no evadan el sistema inmune ni puedan producir procesos infecciosos (Xia *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2013). En resumen, esta fuerte presión ambiental, va a hacer que surja de manera más explosiva, una resistencia marcada a estas sustancias, porque amenaza de forma drástica la supervivencia de las bacterias (Park and Liu, 2012). Los antibióticos son administrados por períodos cortos, sin embargo, las estatinas, por muchos años, afectando de manera directa, los que conforman la microbiota del cuerpo humano, no solo la intestinal.

Un estudio anterior ha demostrado, que el uso de estatinas, crea disbiosis intestinal (Zhernakova *et al.*, 2016). La alteración de la producción de ácidos biliares, por el uso de estatinas, es lo que desencadena la disbiosis intestinal en ratones (Caparros-Martin *et al.*, 2017), a parte del efecto antibacteriano que poseen las estatinas (Jerwood and Cohen, 2008; Welsh *et al.*, 2009; Radwan and Ezzat, 2012; Brender *et al.*, 2012; Farmer *et al.*, 2013; Graziano *et al.*, 2015; Haeri *et al.*, 2015). Se estima, que la concentración de estatina a nivel intestinal es reducido, por las etapas de absorción,

distribución y metabolismo de estas sustancias. A medida que estos medicamentos avanzan hacia el tracto digestivo, la circulación enterohepática disminuye su concentración, pero es sabido, que las estatinas se excretan por las heces. Atorvastatina se excreta 98%, seguida de fluvastatina (93%), rosuvastatina (90%) y simvastatina (60%) (Reinoso *et al.*, 2002; McFarland *et al.*, 2014). La exposición bacteriana a concentraciones muy por debajo de la CMI, ejerce una presión selectiva para la aparición de cepas resistentes en la microbiota intestinal (Andersson and Hughes, 2011).

Simvastatina tiene un efecto bacteriostático en bacterias Gram positivas, cuando la concentración en suero es igual a la CMI (Thangamani *et al.*, 2015), pero se convierte en bactericida, cuando las concentraciones superan cuatro veces la CMI (Graziano *et al.*, 2015).

Los posibles efectos bacterianos de las estatinas planteados hasta ahora son, disrupción de la membrana bacteriana (Bergman *et al.*, 2011), interrupción del crecimiento bacteriano (Masadeh *et al.*, 2012), reducción de la viabilidad (Graziano *et al.*, 2015), o incluso, toxicidad de las células bacterianas, por la ausencia de un metabolito estabilizador de la membrana, en la inhibición de la vía del mevalonato (Haeri *et al.*, 2015).

En el ser humano, la ingesta de estatinas, actúa sobre la HMG-CoA reductasa, la cual interfiere con la vía del mevalonato para controlar la producción de colesterol. En algunas bacterias Gram positivas, como *Staphylococcus aureus*, se ha demostrado que los isoprenoides esenciales se sintetizan, por la vía del mevalonato (Heuston *et al.*, 2012). A pesar de que pareciera la misma vía, en bacterias Gram positivas y seres humanos, la HMG-CoA reductasa humana es de tipo I, mientras que la bacteriana es de tipo II, lo que se traduce como enzimas, estructuralmente diferentes,

haciendo a la enzima humana, diez mil veces más afín a las estatinas (Friesen and Rodwell, 2004).

El colon es un ambiente anóxico estricto, el cual se ve alterado por el estrés oxidativo, modificando la composición de la microbiota intestinal, pasando de microorganismos netamente anaeróbicos a aerotolerantes o anaerobios facultativos (Dapito *et al.*, 2012).

Un intestino sano, posee de 10^4 a 10^6 bacterias en el intestino delgado, mientras que, en el grueso, hay 10^{12} bacterias por gramo de heces. En el intestino delgado, la colonización intestinal está controlada por las secreciones pancreáticas. Las condiciones favorables para el microhábitat intestinal de bacterias metabólicamente diversas, como Bacteroidetes, Bifidobacterias, *Lactobacillus*, bacterias sulfatoreductoras y productoras de AGCC, es un pH de neutro a ligeramente ácido, una tasa de flujo reducido de nutrientes y presencia de abundantes enzimas protectoras antioxidantes (Xu and Gordon, 2003; Backhed *et al.*, 2005; Louis and Flint 2009; Flint *et al.*, 2012; Million *et al.*, 2016).

Enterococcus forma parte del filo firmicutes. Una microbiota en eubiosis, está formada principalmente por Firmicutes, Bacteroidetes y Actinobacteria, seguida de Proteobacteria y Verrucomicrobia (Turnbaugh *et al.*, 2007; Khanna and Tosh, 2014). *Escherichia coli* pertenece al filo Proteobacteria (Scheutz and Strockbine, 2005). El hecho de que las ratas tratadas con atorvastatina, tengan una disminución importante de estos dos géneros (Figuras 12 y 13), indica un franco deterioro de la microbiota intestinal de estos animales de experimentación, cosa que no ocurrió en la microbiota de las ratas controles, las cuales, no vieron disminuidas las UFC (Figuras 12 y 13) de ninguno de estos géneros durante los seis meses del estudio. Por

razones técnicas, se estudiaron solo estas dos especies, una representativa de cada grupo (Gram positivo y Gram negativo); lo que realmente importa aquí, es que, estos resultados representan el impacto que tiene atorvastatina sobre cada grupo bacteriano; lo cual es fácilmente extrapolable al resto de los miembros de la microbiota intestinal y eso sin contar, cómo se afectan las levaduras por el uso de atorvastatina.

El estrés oxidativo puede permitir pérdida de la permeabilidad de la barrera intestinal, lo cual conlleva al paso de microorganismos (translocación), endotoxinas, antígenos al torrente sanguíneo, alcanzando los nervios entéricos y las células inmunitarias (Gareau *et al.*, 2008). Dicho estrés, provoca disbiosis (desequilibrio microbiano), lo cual reduce de forma importante la riqueza microbiana en el intestino, disminuyendo la abundancia de anaerobios benéficos y aumentando patógenos oportunistas anaerobios facultativos o aerotolerantes (Houser and Tansey, 2017; Levy *et al.*, 2017). No solo es la alteración de la estructura intestinal, sino la modificación de la microbiota y todas las consecuencias que eso conlleva, como trastornos autoinmunes, síndromes metabólicos y neurodegenerativos, entre otros (Houser and Tansey, 2017).

Una microbiota intestinal en eubiosis (equilibrio), produce de 50 a 100 mmol/L de AGCC. Estos son ácido acético, propiónico, butírico, valérico y caproico. Representan la principal carga de aniones del colon, por lo que tienen un rol en la salud del colon y el metabolismo energético (den Besten *et al.*, 2013).

Butirato influye inhibiendo la inflamación intestinal y la carcinogénesis, al actuar directamente sobre la capa de la mucosa colónica, reduciendo el estrés oxidativo y reactivando la barrera intestinal (Hamer *et al.*, 2008).

Además, regulan el pH, lo cual mantiene en equilibrio la microbiota (Duncan *et al.*, 2009). Hay receptores de los AGCC en la superficie de las células inmunes, los adipocitos, y enterocitos, convirtiéndolos en competidores de señalización biomolecular entre la microbiota y el intestino (Morrison and Preston, 2016).

Los AGCC se sintetizan por fermentación anaeróbica. Cuando fermentan fibras no digeribles, las bacterias del filo Bacteroidetes producen acetato y propionato mientras que cuando lo hacen las bacterias del filo Firmicutes, sintetizan butirato (Macfarlane and Macfarlane, 2003).

Los cambios de la diversidad microbiana a nivel intestinal, están asociados con la activación de múltiples vías inflamatorias y de estrés oxidativo, así como altos niveles de endotoxemia (LPS en sangre) (Yuzefpolskaya *et al.*, 2017). Estas alteraciones de la microbiota intestinal producen disfunción en la barrera intestinal y aumenta la permeabilidad, trayendo consigo el paso a la circulación sanguínea de bacterias y/o sus bioproductos proinflamatorios (Jennings *et al.*, 2020).

El estrés oxidativo cumple un proceso funcional en el revestimiento del epitelio intestinal, el cual se encarga de procesos fisiológicos en la microbiota, como es, interferir en la composición de los grupos bacterianos, ya que anaerobios prosperan en presencia de aceptores de electrones. Cuando la microbiota se ve alterada, aumenta la permeabilidad del intestino, y hay paso de xenobióticos al sistema sanguíneo, pudiendo viajar por todo el cuerpo (Reese *et al.*, 2018). La disbiosis intestinal es una causa y una consecuencia del incremento de estrés oxidativo en el cuerpo humano (Jones *et al.*, 2012).

El estrés oxidativo es un estado de desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes, generando una interrupción en la señalización REDOX y control del daño molecular (Sies, 2015). Este proceso tiene un rol fisiológico crítico, mientras se mantenga en un rango seguro y estable (Massaad and Klann, 2011); su exceso produce toxicidad, que resulta en un amplio espectro de disfunciones celulares, culminando con la muerte celular (Sies, 2015). Esto ocurre en un metabolismo aeróbico, ya que involucra oxígeno molecular para producir ROS (Patel, 2016).

Los radicales libres son lo suficientemente estables como para existir, son capaces de aceptar o eliminar electrones de otros átomos (Cobley *et al.*, 2018). La mayoría de ROS son subproductos de procesos fisiológicos mitocondriales (Kim *et al.*, 2015). La producción de ATP de las células, depende de los complejos REDOX que conforman la cadena transportadora de electrones en la membrana mitocondrial interna (Moniczewski *et al.*, 2015). El complejo I es NADH coenzima Q oxidorreductasa, el complejo II es succinato Q oxidorreductasa, el complejo III es citocromo C oxidorreductasa y el complejo IV es citocromo C oxidasa (Moniczewski *et al.*, 2015).

Las investigaciones que se han llevado a cabo sobre las estatinas y el microbioma intestinal, es que son fácilmente metabolizadas en compuestos secundarios por los microorganismos del intestino (Zimmermann *et al.*, 2019, Zhao *et al.*, 2020), lo cual indica que el microbioma impacta la biodisponibilidad de las estatinas y en función del hospedero, hay una variabilidad en la respuesta a los niveles de LDL (Karlson *et al.*, 2016).

El consumo de estatinas, puede modificar el microbioma intestinal; los pacientes obesos, que ingieren estatinas, parecen tener un microbioma putativo enterotipo, definido con una abundancia relativa de Bacteroides y

una disminución de Firmicutes, con un agotamiento de AGCC (Vieira-Silva *et al*, 2020). También ha sido reportado en modelos animales, donde la capacidad para producir butirato, se ve truncada en aquellos que consumen estatinas (Caparrós-Martín *et al*, 2017).

La ingesta de estatinas, está relacionada con la disminución de la α -diversidad de la microbiota intestinal. La más alta α -diversidad microbiana, está relacionada con aquellos pacientes que tienen bajos niveles plasmáticos de HMG-CoA reductasa (Wilmanski *et al.*, 2021).

Un estudio reciente (Vieira-Silva *et al*, 2020), demostró que pacientes obesos consumidores de estatinas, tienen la más baja prevalencia del enterotipo *Bacteroides 2*, el cual es considerado, el menos saludable de los enterotipos descritos. En pacientes europeos, se observó, ausencia de *Faecalibacterium* y *Subdoligranulum* en el enterotipo *Bacteroides 2* (Wilmanski *et al.*, 2021).

La composición de la microbiota intestinal, tiene una proporción significativa en la variabilidad de los efectos de las estatinas sobre la población. El enterotipo *Bacteroides 2*, en pacientes que consumen estatinas, tiene el mayor aumento de HMG-CoA reductasa, seguido por *Bacteroides 1* y *Ruminococcus*, con el efecto de niveles más bajos de colesterol LDL (Wilmanski *et al.*, 2021).

En los usuarios de estatinas, hay una correlación negativa con los niveles plasmáticos de HMG-CoA reductasa, independientemente de la dosis y de la predisposición genética, lo cual indica que una microbiota más diversa, puede interferir con las estatinas en los efectos deseados (Wilmanski *et al.*, 2021).

Pacientes con un enterotipo *Bacteroides* dominante, pueden modificar la actividad de las estatinas, impactando en la potencia y los efectos adversos. En este enterotipo, hay ausencia de taxones importantes productores de butirato, colocando a esos pacientes en alto riesgo de complicaciones metabólicas (Wilmanski *et al.*, 2021).

El uso prolongado de estatinas, con efectos cardioprotectores, ejerce una presión selectiva en los diferentes ecosistemas del cuerpo, seleccionando bacterias resistentes, debido a que dependiendo de la estatina consumida (atorvastatina, simvastatina, rosuvastatina, floxuvastatina), las bacterias pueden estar expuestas a CMI cientos de veces más bajas de las que las bacterias poseen o incluso de 8 a 10 veces por encima de sus valores (Hughes and Andersson, 2017).

Las bacterias en presencia de biocidas, metales pesados, químicos no antibióticos con propiedades antibacterianas, expresan resistencia por vía de co-selección (Singer *et al.*, 2016). Esto significa que, se establece una resistencia cruzada, es decir, un gen que es capaz de conferir resistencia a otra sustancia dada, puede otorgarle resistencia a otra sustancia (antes desconocida conferir dicha actividad), porque tienen el mismo sitio de acción. La otra vía posible, es la co-resistencia, que es cuando se involucran varios mecanismos físicos, para impedir la acción de una sustancia sobre su sitio blanco en la bacteria (Wales and Davies, 2015). Es el caso del impacto de atorvastatina sobre bacterias Gram negativas, que parece ser resistente por mecanismos de bombas de eflujo. Se requieren de más estudios para comprobar (Laudy *et al.*, 2017).

El catabolismo de la grasa consumida durante la ingesta de alimentos, ocurre por las lipasas producidas por los microorganismos del intestino, para,

a partir de los triglicéridos y fosfolípidos, producir lípidos libres (Jaeger *et al.*, 1994; Morales *et al.*, 2016). Se sabe que los triglicéridos, representan 95% de la grasa total ingerida (Iqbal and Hussain, 2009). *Enterococcus* reduce el glicerol a 1.3 propanodiol (De Weirdt *et al.*, 2010). Durante este proceso, se sintetiza reuterina (Vanhaecke *et al.*, 2008), que es una sustancia con actividad antibacteriana, para mantener el control del crecimiento bacteriano en el intestino (Cleusix *et al.*, 2007). En las ratas tratadas con atorvastatina, no hay posibilidad de que se controle el crecimiento de otros microorganismos, porque hay una clara deficiencia de UFC de *Enterococcus* en el intestino (Figura 13).

Enterococcus, y otros géneros, descarboxilan los aminoácidos básicos, produciendo subgrupos de aminas (Pugin *et al.*, 2017). El catabolismo de arginina, produce agmatina, la cual tiene efecto antiinflamatorio (Auguet *et al.*, 1995). Agmatina controla la proliferación de las células del epitelio intestinal (Mayeur *et al.*, 2005). En las ratas tratadas con atorvastatina, hay una franca disminución de las UFC de *Enterococcus*, con lo cual, la regeneración celular del intestino, se ve seriamente entorpecida y no puede luchar contra los procesos inflamatorios producidos por la destrucción de las vellosidades.

El metabolismo de *Enterococcus*, genera la producción de espermina y espermidina, para controlar el estrés oxidativo y prolongar la estabilidad celular (Eisenberg *et al.*, 2009). Esto conduce, igualmente, a una síntesis de putrescina. Estas tres poliaminas, mejoran la integridad del intestino, evitando que sea permeable (Chen *et al.*, 2007), promoviendo la restitución intestinal (Rao *et al.*, 2012) y favoreciendo la reducción de moco (Buts *et al.*, 1993; Rao *et al.*, 2012).

En las ratas tratadas con atorvastatina, hay un deterioro intestinal y la poca presencia de UFC de *Enterococcus*, no permite el restablecimiento de las células del intestino ni la producción suficiente de moco, para evitar el paso de sustancias tóxicas hacia el torrente sanguíneo, e incluso, partículas de microorganismos, como el lipopolisacárido de los Gram negativos, generando endotoxemia. Con este panorama, hay una producción importante de citoquinas pro-inflamatorias en las ratas que consumieron atorvastatina durante seis meses.

La microbiota intestinal está conformada al menos de 50 a 70% de bacterias (Firmicutes y Bacteroidetes). La diversidad de Firmicutes se ve disminuida en EII, Enfermedad de Chron, obesos y pacientes diabéticos tipo 2 (Dam *et al.*, 2019). *Enterococcus* pertenece al filo Firmicutes. Son bacterias Gram positivas (Hanchi *et al.*, 2019) y ya se ha demostrado que las estatinas tienen mayor impacto inhibiendo este grupo de bacterias. Las ratas tratadas con atorvastatina tienen una disminución importante de UFC de *Enterococcus*. Es muy probable que desarrollen a largo plazo trastornos metabólicos, debido a la deficiencia enzimática producida en el ambiente intestinal de dichos animales, impactando el porcentaje de asimilación.

CONCLUSIÓN

El uso prolongado de atorvastatina generó un intestino permeable, al crear destrucción del tejido estructural del intestino.

El hígado de las ratas tratadas con atorvastatina entró en un proceso de compensación, debido a los daños histológicos.

El efecto antimicrobiano, disminuyó drásticamente la población de *Enterococcus* y *E. coli* en el intestino de las ratas, con lo cual no se deben estar produciendo, las enzimas necesarias para digerir y absorber los nutrientes.

La disbiosis intestinal, producto del suministro de atorvastatina a las ratas de experimentación, impidió una buena tasa de asimilación y el buen desarrollo de las ratas.

RECOMENDACIÓN

Realizar los experimentos nuevamente en ratas con dislipidemia, para evaluar si el impacto sobre los tejidos y la microbiota es el mismo, ya que el estudio se realizó con ratas normolipémicas.

Aplicar pruebas de inmunohistoquímica, para determinar el tipo de población linfocitaria presente en los tejidos intestinales.

Hacer cultivos celulares de enterocitos con atorvastatina, para demostrar el efecto citopático de esta estatina y determinar si la destrucción del epitelio intestinal es una causa medicamentosa o una consecuencia de la respuesta inmune pro-inflamatoria.

Detectar el perfil hepático de las ratas bajo tratamiento con atorvastatina, para medir si el impacto de la cantidad de células de Kupffer en los hígados de las ratas es por estrés oxidativo o por el mecanismo de acción de atorvastatina.

Examinar cultivos con hepatocitos y atorvastatina, para establecer la causa de la binucleación (envejecimiento, estrés, toxicidad, sobrecarga metabólica o daño oxidativo).

Estudiar las hormonas esteroideas en ratas machos, tratadas con atorvastatina, para establecer su impacto en el desarrollo y comportamiento sexual de las ratas.

Verificar la concentración de arginina, L-carnitina, citrato, glutamato, glutamina, lactato, succinato y taurina en ratas tratadas con atorvastatina, para a través del metaboloma, estudiar su modificación.

Medir los AGCC presentes en las heces de las ratas tratadas con atorvastatina, para inferir los cambios metabólicos de la microbiota intestinal.

Probar las actividades enzimáticas de las hidrolasas y liasas en el intestino de las ratas tratadas con atorvastatina.

Analizar el espectro IR de los cultivos de *E. coli* y *Enterococcus* spp., sin y con atorvastatina, para comparar los grupos funcionales presentes en cada género.

Hacer pruebas de adherencia de cultivos de *E. coli* y *Enterococcus* spp., sin y con atorvastatina, para medir el impacto de atorvastatina sobre las proteínas de superficie.

Cultivar cepas de *E. coli* y *Enterococcus* spp., sin y con atorvastatina, para ver el efecto de presión selectiva, en el desarrollo de resistencia a atorvastatina y antibióticos de uso clínico humano.

BIBLIOGRAFÍA

Ahmed S, Macfarlane GT, Fite A, McBain AJ, Gilbert P, and S Macfarlane. 2007. Mucosa-associated bacterial diversity in relation to human terminal ileum and colonic biopsy samples. *Appl Environ Microbiol.* **73**:7435–42.

Allayee H, and SL Hazen. 2015. Contribution of gut bacteria to lipid levels: another metabolic role for microbes? *Circ Res.* **117**: 750–4.

Almog Y, Shefer A, Novack V, Maimon N, Barski L, Eizinger M, Friger M, Zeller L, and A Danon. 2004. Prior statin therapy is associated with a decreased rate of severe sepsis. *Circulation.* **110**(7):880–5.

Alvarado-Rico S, and L Castro. 2010. Histología del hígado de ratas tratadas con una Infusión de hojas de Higuera (*Ficus carica*). Reporte de Caso. *Rev Fac Cs Vets.* **51**(2):99-103.

Anatskaya OV, and AE Vinogradov. 2007. Genome multiplication as adaptation to tissue survival: evidence from gene expression in mammalian heart and liver. *Genomics.* **89**:70–80.

Anatskaya OV, and AE Vinogradov. 2010. Somatic polyploidy promotes cell function under stress and energy depletion: evidence from tissue specific mammal transcriptome. *Funct Integr. Genome.* **10**:433–46.

Andersson DI, and D Hughes. 2011. Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations. *FEMS Microbiol Rev.* **35**:901–11.

Angelakis E, Armougom F, Carriere F, Bachar D, Laugier R, Lagier JC, Robert C, Michelle C, Henrissat B, and D Raoult. 2015. A metagenomics investigation of the duodenal microbiota reveals links with obesity. *PLoS ONE*. **10**:1–15.

Armitage J. 2007. The safety of statins in clinical practice. *Lancet* **370**:1781–90.

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto JM, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen HB, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal EG, Wang J, Guarner F, Pedersen O, de Vos WM, Brunak S, Doré J; MetaHIT Consortium, Antolín M, Artiguenave F, Blottiere HM, Almeida M, Brechot C, Cara C, Chervaux C, Cultrone A, Delorme C, Denariáz G, Dervyn R, Foerstner KU, Friss C, van de Guchte M, Guedon E, Haimet F, Huber W, van Hylckama-Vlieg J, Jamet A, Juste C, Kaci G, Knol J, Lakhdari O, Layec S, Le Roux K, Maguin E, Mérieux A, Melo Minardi R, M'rini C, Muller J, Oozeer R, Parkhill J, Renault P, Rescigno M, Sanchez N, Sunagawa S, Torrejon A, Turner K, Vandemeulebrouck G, Varela E, Winogradsky Y, Zeller G, Weissenbach J, Ehrlich SD, and P Bork. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. **473**:174–80.

Auguet M, Viossat I, Marin JG, and PE Chabrier. 1995. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase by agmatine. *Jpn J Pharmacol*. **69**:285–7.

Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, and JI Gordon. 2004. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*. **101**(44):15718–23.

Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, and JI Gordon. 2005. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. **307**:1915–20.

Balasubramaniam S, Venkatesen S, Mitropoulos K, and TJ Peters. 1976. The submicrosomal localization of acyl-coenzyme A-cholesterol acyltransferase and its substrate, and of cholesteryl esters in rat liver. *Biochem J*. **174**. 863–72.

Bai JC, Vázquez H, Smecuol E, and C Bonorino. 2008. Enfermedad celíaca. *Rev Med Clin CONDES*. **19**(4) 371 – 380.

Balmus IM, Ciobica A, Trifan A, and C Stanciu. 2016. The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in inflammatory bowel disease: clinical aspects and animal models. *Saudi J Gastroenterol*. **22**:3–17.

Bairlein F. 1999. Energy and nutrient utilisation efficiencies in birds - A review. *In: Adams, N.J. & Slotow, R.H. (eds) Proc. 22 Int. Ornithol. Congr., Durban: 2221-2246. Johannesburg: Bird Life South Africa.*

Batterham RL, Cowley MA, Small CJ, Herzog H, Cohen MA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, and SR Bloom.

2002. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*. **418**: 650–4.

Bauta JL, and A Pupo. 2017. Colitis microscópica. *Correo Científico Médico*. **2**:526 – 39.

Bays H, and EA Stein. 2003. Pharmacotherapy for dyslipemia, current therapies and future agents. *Expert Opin Pharmacother*. **4**:1901-38.

Begley M, Gahan CG, and C Hill. 2005. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev*. **29**:625–651.

Beloborodova N, Bairamov I, Olenin A, Shubina V, Teplova V, and N Fedotcheva. 2012. Effect of phenolic acids of microbial origin on production of reactive oxygen species in mitochondria and neutrophils. *J Biomed Sci*. **19**:89.

Bellosta S, and A Corsini. 2012. Statin drug interactions and related adverse reactions. *Expert Opin Drug Saf*. **11**(6):933-46.

Berg RD. 1996. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol*. **4**(11):430–5.

Berg JM, Tymoczko JL, and L Stryer. 2002. *Biochemistry*. 5th edition. New York: W H Freeman. Section 26.4. Important derivatives of cholesterol include bile salts and steroid hormones. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22339/>

Bergamaschi M, Tiezzi F, Howard J, Huang YJ, and C Maltecca. 2020. Gut microbiome composition differences among breeds impact feed efficiency in swine. *Microbiome*. **8**:110.

Bergman EN. 1990. Energy contribution of volatile fatty-acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol Rev*. **70**(2):567–90.

Bergman P, Linde C, Pütsep K, Pohanka A, Normark S, Henriques-Normark B, Andersson J, and L Björkhem-Bergman. 2011. Studies on the antibacterial effects of statins - *in vitro* and *in vivo*. *Plos ONE*. **6**(8):e24394.

Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, and SE Crowe. 2014. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev*. **94**:329–54.

Bjerknes M, and H Cheng. 2005. Gastrointestinal stem cells. II. Intestinal stem Cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. **289**:G381–G387.

Bjorkhem-Bergman L, Bergman P, Andersson J, and JD Lindh. 2010. Statin treatment and mortality in bacterial infections—a systematic review and meta-analysis. *PloS ONE*. **5**(5):e10702.

Björklund J, Laursen TL, Sandahl TD, Møller HJ, Vilstrup H, Ott P, and H Grønbaek. 2018. High hepatic macrophage activation and low liver function in stable Wilson patients - a Danish cross-sectional study. *Orphanet J Rare Diseases*. **13**:169.

Björnsson E, Jacobsen E, and E Kalaitzakis. 2012. Hepatotoxicity associated with statins: reports of idiosyncratic liver injury post-marketing. *J Hepatol.* **56**:374–80.

Blumberg RS, Saubermann LJ, and W Strober. 1999. Animal models of mucosal inflammation and their relation to human inflammatory bowel disease. *Curr Opin Immunol.* **11**:648–56.

Booijink CC, Zoetendal EG, Kleerebezem M, and WM de Vos. 2007. Microbial communities in the human small intestine: coupling diversity to metagenomics. *Future Microbiol.* **2**:285–95.

Bravo MI, Medina J, Marcano S, Finol HJ and A Boada-Sucre. 2005. Effects of herbicide on the kidneys of two Venezuelan cultured fish: *Caquetaia kraussii* and *Colossoma macropomum* (Pisces: *Cichlidae* and *Characeae*). *Rev Biol Trop.* **53**: 55-60.

Brender JR, McHenry AJ, and A Ramamoorthy. 2012. Does cholesterol play a role in the bacterial selectivity of antimicrobial peptides? *Front Immunol.* **3**:Article 195.

Brown MS, and M Goldstein. 1978. General scheme for regulation of cholesterol metabolism in mammalian cells. *In: Disturbances in lipid and lipoproteins metabolism.* Ü.M. Dietschy, A.M. Gotto and J.A. Ontko, Ed. American Physiological Society, Bethesda MD. 173-180.

Brown AJ, Goldsworthy SM, Barnes AA, Eilert MM, Tcheang L, Daniels D, Muir AI, Wigglesworth MJ, Kinghorn I, Fraser NJ, Pike NB, Strum JC, Steplewski KM, Murdock PR, Holder JC, Marshall FH,

Szekeres PG, Wilson S, Ignar DM, Foord SM, Wise A, and SJ Dowell. 2003. The Orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. *J Biol Chem* **278**:11312–9.

Brown S, Santa Maria Jr JP, and S Walker. 2013. Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. *Ann Rev Microbiol.* **67**:313–36.

Buts J-P, De Keyser N, Kolanowski J, Sokal E, and F van Hoof. 1993. Maturation of villus and crypt cell functions in rat small intestine. *Dig Dis Sci.* **38**:1091–8.

Canfora EE, Jocken JW, and EE Blaak. 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nat Rev Endocrinol.* **11**:577–591.

Caparrós-Martín JA, Lareu RR, Ramsay JP, Peplies J, Reen FJ, Headlam HA, Ward NC, Croft KD, Newsholme P, Hughes JD, and F O’Gara. 2017. Statin therapy causes gut dysbiosis in mice through a PXR-dependent mechanism. *Microbiome.* **5**:95.

Carmody RN, Gerber GK, Luevano JM Jr, Gatti DM, Somes L, Svenson KL, and PJ Turnbaugh. 2015. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host Microbe.* **17**:72–84.

Carr RM, and AE Reid. 2015. FXR agonists as therapeutic agents for non-alcoholic fatty liver disease. *Curr Atheroscler Rep.* **17**:500.

Carrasco-Avino G. 2019. Histología en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Rev Med Clin CONDES. **30**(4):283-98.

Cartun RW, van Kruiningen HJ, Pedersen CA, and MM Berman. 1993. An immunocytochemical search for infectious agents in Crohn's disease. Mod. Pathol. **6**:212–9.

Chegwin-Angarita C, Nieto-Ramírez IJ, Atehortúa L, and LJ Sepúlveda. 2012. Las estatinas: actividad biológica y producción biotecnológica. Rev Col Biotec. **14**:157–78.

Chelakkot C, Ghim J and SH Ryu. 2018. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. Exper Mol Med. **50**:103.

Chen J, Rao JN, Zou T, Liu L, Marasa BS, Xiao L, Zeng X, Turner DJ, and JY Wang. 2007. Polyamines are required for expression of toll-like receptor 2 modulating intestinal epithelial barrier integrity. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. **293**:G568–76.

Choghakhori R, Abbasnezhad A, Hasanvand A, and R Amani. 2017. Inflammatory cytokines and oxidative stress biomarkers in irritable bowel syndrome: association with digestive symptoms and quality of life. Cytokine. **93**:34–43.

Cleusix V, Lacroix C, Vollenweider S, Duboux M, and G Le Blay. 2007. Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. BMC Microbiol. **7**:101.

Cobley JN, Fiorello ML, and DM Bailey. 2018. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biol.* **15**:490–503.

Colina F, C Ibarrola, J Salamanca, GL Alonso, and YR Gil. 2014. Guía para la interpretación de biopsias endoscópicas con sospecha de enfermedad inflamatoria intestinal idiopática. *Rev Esp Patol.* **47**(3):161-77.

Conover R. 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol Oceanogr.* **11**:338–45.

Cook SI, and JH Sellin. 1998. Review article: short chain fatty acids in health and disease. *Aliment Pharmacol Ther.* **12**(6):499–507.

Cotter PD. 2011. Small intestine and microbiota. *Curr Opin Gastroenterol.* **27**:99–105.

Dam B, Misra A, and S Banerjee. 2019. Role of gut microbiota in combating oxidative stress. Chapter 4. *In: Oxidative stress in microbial diseases.* Editors: Chakraborti S, Chakraborti T, Chattopadhyay D, Shaha D. Springer Editorial. ISBN 978-981-13-8763-0. (eBook) <https://doi.org/10.1007/978-981-13-8763-0>.

Daniele SM, Picena JC, Montenegro SM, Tarrés MC, and SM Martínez. 2007. Hígado graso no alcohólico en ratas machos de una línea con diabetes genética. *Rev Electron Biomed.* **3**:29-39.

Danielsson A, Hellers G, Lyrenas E, Nilson A, Olsson O, Persson T, Salde L, and J Naesdal. 1987. A controlled randomized trial of budesonide

versus prednisolone retention enemas in active distal ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* **22**:987–92.

Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO, Kayser BD, Levenez F, Chilloux J, Hoyles L, MICRO-Obes Consortium, Dumas ME, Rizkalla SW, Doré J, Cani PD, and K Clément. 2016. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut.* **65**:426–36.

Dapito DH, Mencin A, Gwak GY, Pradere JP, Jang MK, Mederacke I, Caviglia JM, Khiabani H, Adeyemi A, Bataller R, Lefkowitz JH, Bower M, Friedman R, Sartor RB, Rabadan R, and RF Schwabe. 2012. Promotion of hepatocellular carcinoma by the intestinal microbiota and TLR4. *Cancer Cell* **21**:504–16

Darfeuille-Michaud AD, Neut C, Barnich N, Lederman E, Di Martino P, Desreumaux P, Gambiez L, Joly B, Cortot A, and JF Colombel. 1998. Presence of adherent *Escherichia coli* strains in the ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterol.* **115**:1405–13.

David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA, Biddinger SB, Dutton RJ, and PJ Turnbaugh. 2014. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* **505**:559–63.

De Weirdt R, Possemiers S, Vermeulen G, Moerdijk-Poortvliet TCW, Boschker HTS, Verstraete W, and T van de Wiele. 2010. Human faecal

microbiota display variable patterns of glycerol metabolism. *FEMS Microbiol Ecol.* **74**:601–11.

den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, and BM Bakker. 2013. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res.* **54**: 2325–40.

Devkota S, Wang Y, Musch MW, Leone V, Fehlner-Peach H, Nadimpalli A, Antonopoulos DA, Jabri B, and EB Chang. 2012. Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in IL10^{-/-} mice. *Nature.* **487**:104–8.

Dickey W. 2006. Endoscopic markers for celiac disease. *Gastroenterol Hepatol.* **3**(10):546-51.

Dielman LA, Pena AS, Meuwissen SG, and EP Van Rees. 1997. Role of animal models for the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* **32**(Suppl. 223):99–104.

Díaz-Moya EO, Chávez-García MA, Manrique MA, Hernández-Velázquez NN, Pérez-Corona T, Pérez-Valle E, Gómez-Peña-Alfaro NS, Espino-Cortés H, GB de León. 2015. Utilidad de la colonoscopia con toma de biopsias en el paciente con diarrea crónica. *Rev Hosp Jua Mex.* **82**(2):9–5.

Di Meo S, Reed TT, Venditti P, and VM Victor. 2016. Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev.* **2016**:44.

Disotuar SD, and PP García. 2016. Técnicas diagnósticas en malabsorción y maldigestión de macronutrientes. *Nutr Clin Med.* **X(1):**40–53.

Dixon LJ, Barnes M, Tang H, Pritchard MT, and LE Nagy. 2013. Kupffer cells in the liver. *Compr Physiol.* **3(2):**785–97.

Donaldson GP, Lee SM, and SK Mazmanian. 2015. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol.* **14:** 20–32.

Duncan SH, Louis P, Thomson JM, Flint HJ. 2009. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota. *Environ Microbiol.* **11:**2112–22.

Eaton LC, Erdos GW, Vreeland NL, and LO Ingram. 1981. Failure of *Escherichia coli* to alter its fatty acid composition in response to cholesterol-induced changes in membrane fluidity. *J Bacteriol.* **146:**1151–3.

Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* **308(5728):**1635–8.

Eisenberg T, Knauer H, Schauer A, Büttner S, Ruckstuhl C, Carmona-Gutierrez D, Ring J, Schroeder S, Magnes C, Antonacci L, Fussi H, Deszcz L, Hartl R, Schraml E, Criollo A, Megalou E, Weiskopf D, Laun P, Heeren G, Breitenbach M, Grubeck-Loebenstien B, Herker E, Fahrenkrog B, Fröhlich KU, Sinner F, Tavernarakis N, Minois N, Kroemer G, and F Madeo. 2009. Induction of autophagy by spermidine promotes longevity. *Nat Cell Biol.* **11:**1305–14.

El Aidy S, Merrifield CA, Derrien M, van Baarlen P, Hooiveld G, Levenez F, Doré J, Dekker J, Holmes E, Claus SP, Reijngoud DJ, and M Kleerebezem. 2013. The gut microbiota elicits a profound metabolic reorientation in the mouse jejunal mucosa during conventionalisation. *Gut*. **62**: 1306–14.

Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, and RH Riddell. 1995. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterol*. **109**:1344–67.

Eri R, and M Chieppa. 2013. Messages from the inside. The dynamic environment that favors intestinal homeostasis. *Front Immunol*. **4**:323.

Falcón-Etchechury M, Silveira-Gramont MI, Robles-Sánchez RM, Canett-Romero R, Ramos-Enríquez R, López-Cervantes R, Rodríguez-Olibarría G, Gutiérrez-Millán LE, Aldana-Madrid ML. 2013. Spirotetramat induce cambios histológicos y bioquímicos en rata Wistar. *Rev. Toxicol*. **30**: 215–7.

Farmer AR, Murray CK, Mende K, Akers KS, Zera WC, Beckius ML, Yun HC. 2013. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on antimicrobial susceptibilities for gram-negative rods. *J Bas Microbiol*. **53**:336–9.

Fasano A. 2011. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*. **91**(1):151–75.

Feakins RM. 2013. Inflammatory bowel disease biopsies: Updated. British Society of Gastroenterology reporting guidelines. *J Clin Pathol.* **66**:1005 – 26.

Ferrufino JC, Taxa L, and G Angeles. 1996. Histología normal del intestino delgado. *Rev Med Hered.* **7**:46-57.

Fleming SE, Choi SY, Fitch MD. 1991. Absorption of short-chain fatty-acids from the rat cecum *in vivo*. *J Nutr.* **121**(11):1787–97.

Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. 2012. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* **9**:577–89.

Foster TJ, Geoghegan JA, Ganesh VK, and M Hook. 2014. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Microbiol.* **12**:49–62.

Foster JA, Rinaman L, and JF Cryan. 2017. Stress & the gut-brain axis: regulation by the microbiome. *Neurobiol Stress.* **7**:124–36.

Friedman SL. 2008. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterol.* **134**:1655–69.

Friedman ES, Li Y, David Shen TC, Jiang J, Chau L, Adorini L, Babakhani F, Edwards J, Shapiro D, Zhao C, Carr RM, Bittinger K, Li H, Wu GD. 2018. FXR-dependent modulation of the human small intestinal microbiome by the bile acid derivative obeticholic acid. *Gastroenterol.* **155**:1741–1752.e5.

Friesen JA, and VW Rodwell. 2004. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases. *Gen Biol.* **5**:Article 248.

Fustiñana CA. 2011. Fisiopatología de la enterocolitis necrotizante (ECN). *Rev Hosp Ital B Aires.* **31**(4):137–42.

Gareau MG, Silva MA, and MH Perdue. 2008. Pathophysiological mechanisms of stress-induced intestinal damage. *Curr Mol Med.* **8**:274–81.

Gazzerro P, Proto MC, Gangemi G, Malfitano AM, Ciaglia E, Pisanti S, Santoro A, Laezza C, Bifulco M. 2012. Pharmacological actions of statins: a critical appraisal in the management of cancer. *Pharmacol Rev.* **64**:102–46.

Gertow K, Bellanda M, Eriksson P, Boquist S, Hamsten A, Sunnerhagen M, Fisher RM. 2004. Genetic and structural evaluation of fatty acid transport protein-4 in relation to markers of the insulin resistance syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* **89**: 392–9.

Gevers D, Kugathasan S, Denson Lee A, Vazquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, Schwager E, Knights D, Song SJ, Yassour M, Morgan XC, Kostic AD, Luo C, González A, McDonald D, Haberman Y, Walters T, Baker S, Rosh J, Stephens M, Heyman M, Markowitz J, Baldassano R, Griffiths A, Sylvester F, Mack D, Kim S, Crandall W, Hyams J, Huttenhower C, Knight R, Xavier RJ. 2014. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe.* **15**:382–92

Gill JR. 1985. Control mechanism in sterol uptake and biosynthesis. *In: Sterols and Bile Acids.* H. Danielsson and J. Sjovall (eds) Elsevier Science Publishers B.V. (biomedical división).

Gill SR, Pop M, DeBoy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, and Nelson KE. 2006. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science.* **312(5778):**1355–1359.

Goldman H. 1994. Interpretation of large intestinal mucosal biopsy specimens. *Hum Pathol.* **25:**1150–9.

Gong H, Han Y-w, Sun L, Zhang Y, Zhang E-y, Li Y, and T-m Zhang. 2016. The effects of energy intake of four different feeding patterns in rats. *Exper Biol Med.* **241:** 52–9.

Gorokhova E, Rivetti C, Furuhagen S, Edlund A, Ek K, and M Breitholtz. 2015. Bacteria-mediated effects of antibiotics on *Daphnia* nutrition. *Environ Sci Technol.* **49(9):**5779-87.

Graziano T, Cuzzullin M, Franco G, Schwartz-Filho H, Dias de Andrade E, Groppo F, and K Cogo-Müller. 2015. Statins and antimicrobial effects: simvastatin as a potential drug against *Staphylococcus aureus* biofilm. *PLoS ONE.* **10(5):**e0128098.

Guarner F. 2007. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nut Hospital.* **22:**14–19.

Guidotti J-E, Brégerie O, Robert A, Debey P, Brechot C, and C Desdouets. 2003. Liver cell polyploidization: A pivotal role for binuclear. Hepatocytes. **278**(21): 19095–19101.

Gupta RB, Harpaz N, Itzkowitz S, Hossain S, Matula S, Kornbluth A, Bodian C, Ullman T. 2007. Histologic inflammation is a risk factor for progression to colorectal neoplasia in ulcerative colitis: a cohort study. Gastroenterol. **133**(4):1099-105.

Haeri MR, White K, Qharebeglou M, and MM Ansar. 2015. Cholesterol suppresses antimicrobial effect of statins. Iranian Journal of Bas Med Sci. **18**:1253–56.

Hagen TM, Huang S, Curnutte J, Fowler P, Martinez V, Wehr CM, Ames BN, and FV Chisari. 1994. Extensive oxidative DNA damage in hepatocytes of transgenic mice with chronic active hepatitis destined to develop hepatocellular carcinoma. Proc Natl Acad Sci USA. **91**(26):12808-12.

Hall JE. 2016. Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. Décima tercera edición. Gea Consultoria Editorial SL: Kindle Store. pp. 1168.

Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer RJ. 2008. Review article: the role of butyrate on colonic function. Aliment Pharmacol Ther. **27**:104–19.

Hanchi H, Mottawea W, Sebei K, and R Hammami. **2018.** The Genus *Enterococcus*: Between Probiotic Potential and Safety Concerns—An Update. **Front Microbiol.** 9:1791.

Hanson BR, and MN Neely. 2012. Coordinate regulation of Gram-positive cell surface components. *Curr Opin Microbiol.* **15**:204–10.

Harrold M. 2013. Antihyperlipoproteinemics and inhibitors of cholesterol biosynthesis. *In*: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, eds. Foye's principles of medicinal chemistry. 7th edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.

Hayashi H, Takahashi R, Nishi T, Sakamoto M, Benno Y. 2005. Molecular analysis of jejunal, ileal, caecal and rectosigmoidal human colonic microbiota using 16S rRNA gene libraries and terminal restriction fragment length polymorphism. *J Med Microbiol.* **54**:1093–101.

Hendrickson BA, Gokhale R, and JH Cho. 2002. Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clin Microbiol Rev.* **15**(1):79–94

Heuston S, Begley M, Gahan CG, Hill C. 2012. Isoprenoid biosynthesis in bacterial pathogens. *Microbiol.* **158**:1389–1401.

Hirota T, and I leiri. 2015. Drug-drug interactions that interfere with statin metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* **10**:1–13.

Hofmann AF, and B Borgström. 1964. The intraluminal phase of fat digestion in man: the lipid content of the micellar and oil phases of intestinal content obtained during fat digestion and absorption. *J Clin Invest.* **43**:247–57.

Hoffman WF, Alberts AW, Anderson PS, Chen JS, Smith RL, Willard AK. 1986. 3-Hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A reductase inhibitors. 4. Side chain ester derivatives of mevinolin. *J Med Chem.* **29**(5):849–52.

Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PC, Gordon JI. 2001. Molecular analysis of commensal host-microbial relations hips in the intestine. *Science.* **291**(5505):881–4.

Horn MP, Knecht SM, Rushing FL, Birdsong J, Siddall CP, Johnson CM, Abraham TN, Brown A, Volk CB, Gammon K, Bishop DL, McKillip JL, McDowell SA. 2008. Simvastatin inhibits *Staphylococcus aureus* host cell invasion through modulation of isoprenoid intermediates. *J Pharmacol Exper Ther.* **326**(1):135–43.

Houser MC, and MG Tansey. 2017. The gut-brain axis: is intestinal inflammation a silent driver of Parkinson's disease pathogenesis? *NPJ Parkinsons Dis.* **3**:3.

Huacuja F, M Gómez, J Ortiz, B Soberanes, V Arévalo, E Morales, L Sánchez, G Fanghänel. 2006. Efecto de las estatinas más allá del colesterol. *Rev Endocrinol Nut.* **14**:73–88.

Huang W, Metlakunta A, Dedousis N, Pili Zhang, Sipula I, Dube JJ, Scott DK, and RM O'Doherty. 2010. Depletion of liver Kupffer cells prevents the development of diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance. *Diabetes.* **59**:347–57.

Huang EY, Leone VA, Devkota S, Wang Y, Brady MJ, Chang EB. 2013. Composition of dietary fat source shapes gut microbiota architecture

and alters host inflammatory mediators in mouse adipose tissue. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* **37**:746–54.

Hughes D, and DI Andersson. 2017. Evolutionary trajectories to antibiotic resistance. *Ann Rev Microbiol.* **71**:579 – 96.

Isaacson PG. 2000. Relation between cryptic intestinal lymphoma and refractory sprue. *Lancet.* **356**:178–9.

Iqbal J, and MM Hussain. 2009. Intestinal lipid absorption. *Am J Physiol – Endocrinol Metab.* **296**:E1183–94.

Janda S, Young A, Fitzgerald JM, Etminan M, and J Swiston. 2010. The effect of statins on mortality from severe infections and sepsis: a systematic review and meta-analysis. *J Crit Care.* **25**(4):656e7–22.

Jaeger KE, Ransac S, Dijkstra BW, Colson C, van Heuvel M, and O Misset. 1994. Bacterial lipases. *FEMS Microbiol Rev.* **15**:29–63.

Jeffery IB, OToole PW, Ohman L, Claesson MJ, Deane J, Quigley EM, and Simrén. 2011. An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota. *Gut.* **61**:997–1006.

Jennings DL, Bohn B, Zuver A, Onat D, Gaine M, Royzman E, Hupf J, Brunjes D, Latif F, Restaino S, Garan AR, Topkara VK, Takayama H, Takeda K, Naka Y, Farr M, Nandakumar R, Uhlemann AC, Colombo PC, Demmer RT, and M Yuzefpolskaya. 2020. Gut microbial diversity, inflammation, and oxidative stress are associated with tacrolimus dosing requirements early after heart transplantation. *PLoS ONE.* **15**(5):e0233646.

Jerwood S, and J Cohen. 2008. Unexpected antimicrobial effect of statins. *J Antimicrob Chemother.* **61**: 362–364.

Johansson ME, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, and GC Hansson. 2008. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci.* **105**:15064–9.

Johncilla M, and Mitchell K. 2011. Pathology of the liver in copper overload. *Semin Liver Dis.* **31**(03):239–44.

Jones, A.; Glomset, J. 1985. Biosynthesis function and metabolism of sterol esters. *In: Sterols and Bile Acids.* H. Danielsson and J. Sjovall (eds), Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical División).

Jones RM, Mercante JW, and AS Neish. 2012. Reactive oxygen production induced by the gut microbiota: pharmacotherapeutic implications. *Curr Med Chem.* **19**:1519–29.

Kagnoff MF. 2014. The intestinal epithelium is an integral component of a communications network. *J Clin Invest.* **124**:2841–3.

Kang, C. S, Ban M, Choi EJ, Moon HG, Jeon JS, Roh TY, Myung SJ, Gho YS, Kim JG, Kim YK. 2013. Extracellular vesicles derived from gut microbiota, especially *Akkermansia muciniphila*, protect the progression of dextran sulfate sodium-induced colitis. *PLoS ONE.* **8**:e76520.

Kazankov K, Tordjman J, Moller HJ, Vilstrup H, Poitou C, Bedossa P, Bouillot JL, Clement K, Grønbaek H. 2015. Macrophage activation marker soluble CD163 and non-alcoholic fatty liver disease in morbidly obese

patients undergoing bariatric surgery. *J Gastroenterol Hepatol.* **30**(8):1293–300.

Kazankov K, Francisco B, Møller HJ, Rosso C, Bugianesi E, David ERIKJ, Esmaili S, Eslam M, McLeod D, Bibby BM, Vilstrup H, George J, Grønbaek H. 2016. The macrophage activation marker sCD163 is associated with morphological disease stages in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* **36**:1549–57.

Karlson BW, Wiklund O, Palmer MK, Nicholls SJ, Lundman P, and PJ Barter. 2016. Variability of low-density lipoprotein cholesterol response with different doses of atorvastatin, rosuvastatin, and simvastatin: results from VOYAGER. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* **2**:212–7.

Kastl AJ Jr, Terry NA., Wu GD, and LG Albenberg. 2020. The structure and function of the human small Intestinal microbiota: Current understanding and future directions. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* **9**:33–45.

Kenelly PJ, and JW Rodwell. 1985. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by reversible phosphorylation-dephosphorylation. *J Lipid Res.* **26**:903-914.

Keren DF, Appelman HD, Dobbins III WO, Wells JJ, Whisenant B, Foley J, Dieterle R, Geisinger K. 1984. Correlation of histopathologic evidence of disease activity with the presence of immunoglobulin-containing cells in the colons of patients with inflammatory bowel disease. *Hum Pathol.* **15**:757–63.

Khan AR, Riaz M, Bin Abdulhak AA, Al-Tannir MA, Garbati MA, Erwin PJ, Baddour LM, Tleyjeh IM. 2013. The role of statins in prevention and treatment of community acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *PloS ONE*. **8**(1):e52929.

Khanna S, and PK Tosh. 2014. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc*. **89**:107–14.

Kim G. H., Kim J. E., Rhie S. J., and S Yoon. 2015. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Exper Neurobiol*. **24**(4):325–40.

Kimura I, Ozawa K, Inoue D, Imamura T, Kimura K, Maeda T, Terasawa K, Kashihara D, Hirano K, Tani T, Takahashi T, Miyauchi S, Shioi G, Inoue H, Tsujimoto G. 2013. The gut microbiota suppresses insulin-mediated fat accumulation via the short-chain fatty acid receptor GPR43. *Nat Commun*. **4**:1829.

Ko H, Lareu R, Dix B, and J Hughes. 2017. Statins: antimicrobial resistance breakers or makers? *Peer J*. **5**:e3952.

Kozarov E, Padro T, Badimon L. 2014. View of statins as antimicrobials in cardiovascular risk modification. *Cardiovascular Research*. **102**(3):362–74.

Krajmalnik-Brown R, Ilhan ZE, Kang DW, and JK DiBaise. 2012. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutr Clin Pract*. **27**(2):201-14.

Krause MR, and Regen SL. 2014. The structural role of cholesterol in cell membranes: From condensed bilayers to lipid rafts. *Acc. Chem. Res.* **47**(12):3512-21.

Kreutz C, MacNelly S, Follo M, Wäldin A, Binninger-Lacour P, Timmer J, Bartolomé-Rodríguez MM. 2017. Hepatocyte ploidy is a diversity factor for liver homeostasis. *Front Physiol.* **8**:862.

Kucharzik, T. Maaser C, Lüdering A, Kagnoff M, Mayer L, Targan S, Domschke W. 2006. Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies. *Inflamm. Bowel Dis.* **12**:1068–83.

Lang PA, Xu HC, Grusdat M, McIlwain DR, Pandya AA, Harris IS, Shaabani N, Honke N, Maney SK, Lang E, Pozdeev VI, Recher M, Odermatt B, Brenner, D, Häussinger D, Ohashi PS, Hengartner H, Zinkernagel RM, Mak TW, and KS Lang. 2013. Reactive oxygen species delay control of lymphocytic choriomeningitis virus. *Cell Death Differ.* **20**(4):649–58.

Laudy AE, Kulinska E, and S Tyski. 2017. The impact of efflux pump inhibitors on the activity of selected non-antibiotic medicinal products against gram-negative bacteria. *Molecules.* **22**:Article 114.

Leone V, Gibbons SM, Martinez K, Hutchison AL, Huang EY, Cham CM, Pierre JF, Heneghan AF, Nadimpalli A, Hubert N, Zale E, Wang Y, Huang Y, Theriault B, Dinner AR, Musch MW, Kudsk KA, Prendergast BJ, Gilbert JA, Chang EB. 2015. Effects of diurnal variation of gut microbes and high-fat feeding on host circadian clock function and metabolism. *Cell Host Microbe.* **17**:681–9.

Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Ramey RR, Bircher JS, Schlegel ML, Tucker TA, Schrenzel MD, Knight R, Gordon JI. 2008. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*. **320**(5883):1647–51.

Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaïss CA, and E Elinav. 2017. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol*. **17**:219.

Li F, Jiang C, Krausz KW, Li Y, Albert I, Hao H, Fabre KM, Mitchell JB, Patterson AD, Gonzalez FJ. 2013. Microbiome remodelling leads to inhibition of intestinal farnesoid X receptor signalling and decreased obesity. *Nat Commun*. **4**:2384.

Liu, Y., J. Van Kruningen, A. N. West, Cartun RW, Cortot A, Colombel JF. 1995. Immunocytochemical evidence of listeria, *Escherichia coli* and *Streptococcus* antigens in Crohn's disease. *Gastroenterol*. **108**:1396–1404.

Lloyd-Price J, Abu-Ali G, and C Huttenhower. 2016. The healthy human microbiome. *Genome Med*. **8**:51.

Loh G, and M Blaut. 2012. Role of commensal gut bacteria in inflammatory bowel diseases. *Gut Microbes*. **3**:544–55.

López-Cortés LE, Galvez-Acebal J, Del Toro MD, Velasco C, de Cueto M, Caballero FJ, Muniain MA, Pascual A, Rodríguez-Baño J. 2013. Effect of statin therapy in the outcome of bloodstream infections due to *Staphylococcus aureus*: a prospective cohort study. *PLoS ONE*. **8**(12):e82958.

Louis P, and HJ Flint. 2009. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiol Lett.* **294**:1–8.

Luft JH. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9**:409.

Ma TY. 1997. Intestinal epithelial barrier dysfunction in Crohn's disease. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med.* **214**:318–327.

Macfarlane S, and GT Macfarlane. 2003. Regulation of short chain fatty acid production. *Proc Nutr Soc.* **62**:67–72

Macfarlane GT, and S Macfarlane. 2012. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int.* **95**:50–60.

Mayeur C, Veuillet G, Michaud M, Raul F, Blottière HM, Blachier F. 2005. Effects of agmatine accumulation in human colon carcinoma cells on polyamine metabolism, DNA synthesis and the cell cycle. *Biochim Biophys Acta BBA-Mol Cell Res.* **1745**:111–23.

McFarland AJ, Anoopkumar-Dukie S, Arora DS, Grant GD, McDermott CM, Perkins AV, and AK Davey. 2014. Molecular mechanisms underlying the effects of statins in the central nervous system. *Int J Mol Sci.* **15**:20607–37.

McNeil NI, Cummings JH, James WPT. 1978. Short chain fatty-acid absorption by human large intestine. *Gut.* **19**(9):819–22.

McNeil NI. 1984. The contribution of the large-intestine to energy supplies in man. *Am J Clin Nutr.* **39**(2):338–42.

Malanovic N, and K Lohner. 2016. Gram-positive bacterial cell envelopes: the impact on the activity of antimicrobial peptides. *Biochim Biop Acta.* **1858**:936–46.

Marietta EV, Cartee A, Rishi A, and JA Murray. 2015. Drug-induced enteropathy. *Dig Dis.* **33**:215–20.

Martinez-Guryn K, Hubert N, Frazier K, Urlass S, Musch MW, Ojeda P, Pierre JF, Miyoshi J, Sontag TJ, Cham CM, Reardon CA, Leone V, and EB Chang. 2018. Small intestine microbiota regulate host digestive and absorptive adaptive responses to dietary lipids. *Cell Host Microbe.* **23**:458–469e5.

Martínez de VE, Mañas M, Yago MD. 2005. Fisiología de la Digestión. *In: Tratado de Nutrición Tomo I.* A. Gil Editor. Acción Médica. Madrid. 249–93.

Martínez-Martínez C, García-Espinosa J, Moya-Sánchez E. 2020. Duodenitis eosinofílica y hallazgos por imagen: una patología infrecuente. *RAPD On Line.* **43**(3):128–30.

Masadeh M, N Mhaidat, K Alzoubi, S Al-azzam, Z Alnasser. 2012. Antibacterial activity of statins: a comparative study of atorvastatin, simvastatin, and rosuvastatin. *Annals Clin Microbiol Antimicrob.* **11**:1–5.

Mason RP, Walter MF, Day CA, and RF Jacob. 2005. Intermolecular differences of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors contribute to distinct pharmacologic and pleiotropic actions. *Am J Cardiol.* **96(5A):11F–23F.**

Massaad C. A. and E Klann. 2011. Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory. *Antiox Redox Signal.* **14(10): 2013–54.**

Matsuoka K, and T Kanai. 2015. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol.* **37:47–55.**

Medzhitov R. 2008. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature.* **454:428–35.**

Méndez N, and M Uribe. 2008. Inhibición de la absorción intestinal de colesterol. Una nueva estrategia para el tratamiento médico de la litiasis biliar de colesterol. *Medicina Universitaria.***10(41):230-4**

Mendoza N. 2008. **Farmacología médica.** Editorial Médica Panamericana. Páginas 495-6.

Mennickent S, M Bravo, C Calvo, and M Avello. 2008. Efectos pleiotrópicos de las estatinas. *Rev Méd Chile.* **136: 775–82.**

Mention JJ, Ben Ahmed M, Bègue B, Brousse N, Cellier C, Cerf-Bensussan N. 2003. Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease. *Gastroenterol.* **125:730-45.**

Mete R, Tulubas F, Oran M, Yilmaz A, Avci BA, Yildiz K, Turan CB, Gurel A. 2013. The role of oxidants and reactive nitrogen species in irritable bowel syndrome: a potential etiological explanation. *Med Sci Monit.* **19**:762–6

Million M, Tidjani Alou M, Khelaifia S, Bachar D, Lagier J-C, Dione N, Brah S, Hugon P, Lombard V, Armougom F, Fromonot J, Robert C, Michelle C, Diallo A, Fabre A, Guieu R, Sokhna C, Henrissat B, Parola P, Raoult D. 2016. Increased gut redox and depletion of anaerobic and methanogenic prokaryotes in severe acute malnutrition. *Sci Rep.* **6**:26051

Mitropoulos KA, Balasubramanian S, Venkatesan S, and BEA Reeves. 1978. On the mechanisms for the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, of cholesterol 7 α -hydroxylase and of acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase by free cholesterol. *Biochim. Biophys. Acta.* **530**:99-110.

Modesto J, González P, Terry O, Leturia I, Aguiar B, and I Elejalde. 2017. Enteropatía asociada a olmesartán: atención a un fenómeno iatrogénico emergente. *Anales Sis San Navarra.* **40**(2): 291-4.

Mohamed BM, Feighery C, Kelly J, Coates C, and U O'Shea. 2006. Increased protein expression of matrix metalloproteinases -1, -3, and -9 and TIMP-1 in patients with gluten sensitive enteropathy. *Dig Dis Sci.* **51**:1862-8.

Molberg Ø, McAdam SN, Körner R, Quarsten H, Kristiansen C, Madsen L, Fugger L, Scott H, Norén O, Roepstorff P, Lundin KE, Sjöström H, Sollid LM. 1998. Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease. *Nat Med.* **4**:974.

Molina MT, Vázquez CM, and V Ruiz. 1991. Metabolismo del colesterol su regulación a nivel hepático e intestinal. *Grasas y Aceites.* **42(4):**298-308.

Moniczewski A., Gawlik M., Smaga I, Niedzielska E, Krzek J, Przegaliński E, Pera J, Filip M. 2015. Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 1. Chemical aspects and biological sources of oxidative stress in the brain. *Pharmacological Reports.* **67(3):**560–8.

Morales AA, Arrieta D, García F, Bermúdez V, Leal L, and P López. 2009. Lesiones histológicas asociadas a la terapia combinada Fenilbutazona, Furosemida y Dexametasona en el modelo experimental murino. *Rev Soc Med Quir Hosp Emerg Pérez de León.* **40(2):**126–35.

Morales P, Fujio S, Navarrete P, Ugalde JA, Magne F, Carrasco-Pozo C, Tralma K, Quezada M, Hurtado C, Covarrubias N, Brignardello J, Henriquez D, and M Gotteland. 2016. Impact of dietary lipids on colonic function and microbiota: an experimental approach involving orlistat-induced fat malabsorption in human volunteers. *Clin Transl Gastroenterol.* **7:**e161.

Moreno GE, da Silveira V, Ribeiro FJ. 2006. Anatomía y fisiología hepática. Brasil: Atheneu. p. 13-36.

Morrison DJ, and T Preston. 2016. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes* **7:**189–200.

Mshvildadze M, Neu J, Shuster J, Theriaque D, Li N, and V Mai. 2010. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. *J Pediatr.* **156**(1):20-5.

Naddaf R, and W Folkmanas. 2011. Relación endoscópica entre duodenitis inespecífica y sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado. *Gen.* **65**(3):207–15.

Naito M, Hasegawa G, Ebe Y, and T Yamamoto. 2004. Differentiation and function of Kupffer cells. *Medical Electron Microscopy.* **37**(1):16-28.

Neish AS. 2013. Redox signaling mediated by the gut microbiota. *Free Radic Res.* **47**:950–7.

Nieto I, C Chegwin, L Atehortúa, L Sepúlveda. 2013. Las estatinas: química, técnicas analíticas. *Rev Fac Quim Farm.* **20**: 49–63.

Odze RD, and JR Goldblum. 2014. *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas.* 3 ed: Saunders Elsevier.

Okamoto R, and M Watanabe. 2004. Molecular and clinical basis for the regeneration of human gastrointestinal epithelia. *J. Gastroenterol.* **39**:1–6.

Packard CJ, and J Sheperd. 1982. The hepatobiliary axis and lipoprotein metabolism: effects of bile acid sequestrants and ileal bypass surgery. *J Lipid Res.* **23**:1081–98.

Park B, and GY Liu. 2012. Targeting the host-pathogen interface for treatment of *Staphylococcus aureus* infection. *Seminars in Immunopathology* **34**:299-315.

Patel M. 2016. Targeting oxidative stress in central nervous system disorders. *Trends Pharm Sci.* **37**(9): 768–78.

Patey-Mariaud N, Cellier C, Jabri B, Delabesse E, Verkarre V, Roche B, Lavergne A, Brière J, Mauvieux L, Leborgne M, Barbier JP, Modigliani R, Matuchansky C, MacIntyre E, Cerf-Bensussan N, and N Brousse. 2000. Distinction between coeliac disease and refractory sprue: a simple immunohistochemical method. *Histopathology.* **37**:70–7.

Pérez MA, Benavente A, Maraver A, Romero MJ, Barrios A. 2004. ¿Es la yeyunitis ulcerativa crónica una entidad propia? *An Med Interna.* **21**(5):58–9.

Pirman T, Lozej J, Orešnik A, and J Salobir. 2006. The effect of three sources of fibre on the digestibility of nutrients in growing rats. *Krmiva.* **48**(5):267-74.

Plovier, H., Everard A, Druart C, Depommier C, van Hul M, Geurts L, Chilloux J, Ottman N, Duparc T, Lichtenstein L, Myridakis A, Delzenne NM, Klievink J, Bhattacharjee A, van der Ark KC, Aalvink S, Martinez LO, Dumas ME, Maiter D, Loumaye A, Hermans MP, Thissen JP, Belzer C, de Vos WM, and PD Cani. 2017. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat Med.* **23**:107–13.

Pugin B, Barcik W, Westermann P, Heider A, Wawrzyniak M, Hellings P, Akdis CA, O'Mahony L. 2017. A wide diversity of bacteria from the human gut produces and degrades biogenic amines. *Microb Ecol Health Dis.* 28:1353881.

Rabot S, Membrez M, Bruneau A, Gerard P, Harach T, Moser M, Raymond F, Mansourian R, and CJ Chou. 2010. Germfree C57BL/6J mice are resistant to high-fat-diet induced insulin resistance and have altered cholesterol metabolism. *FASEB J.* 24:4948–59.

Radwan S, and O Ezzat. 2012. Antimicrobial effect and immunomodulation of atorvastatin. *J Am Sci.* 8:1012–6.

Ramírez H, Alejandro MJ, Segovia JL, and E García-Peregrin. 1978. Different thermal behavior of neonatal hepatic and cerebral 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA-reductase. *Lipids.* 16:552–4.

Ramos-Esquivel A, and C León-Céspedes. 2007. Efectos no hipolipemiantes de las estatinas. *Acta Médica Costarricense.* 49: 182–189.

Rao JN, Rathor N, Zhuang R, Zou T, Liu L, Xiao L, Turner DJ, and JY Wang. 2012. Polyamines regulate intestinal epithelial restitution through TRPC1-mediated Ca^{2+} signaling by differentially modulating STIM1 and STIM2. *Am J Physiol Cell Physiol.* 303:C308–17.

Reese AT, Cho EH, Klitzman B, Nichols SP, Wisniewski NA, Villa MM, Durand HK, Jiang S, Midani FS, Nimmagadda SN, O'Connell TM, Wright JP, Deshusses MA, David LA. 2018. Antibiotic-induced changes in the microbiota disrupt redox dynamics in the gut. *eLife.* 7.

Reilly KJ, and JL Rombeau. 1993. Metabolism and potential clinical-application of short-chain fatty-acids. *Clin Nutr.* **12**:97–105.

Reinoso RF, Sanchez Navarro A, Garcia MJ, and JR Prous. 2002. Preclinical pharmacokinetics of statins. *Find Exp Clin Pharmacol.* **24**:593–613.

Repa JJ, Turley SD, Lobaccaro J-MA, Medina J, Li L, Lustig K, Shan B, Heyman RA, Dietschy JM, Mangelsdorf DJ. 2000. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science.* **289**:1524–9.

Riley SA, and MN Marsh. 1998. Maldigestion and malabsorption. *In: Gastrointestinal and Liver Disease.* Feldman, M, Scharschmidt, BF, Sleisenger, MV (Eds), WB Saunders, Philadelphia. p.1501-1520.

Rojas LM, Liscano NA, Boada-Sucre A, Palmar M, Moreno M, Gómez A, and Prin JL. 2013. Daños observados en la sustancia gris del cerebelo de ratas en desarrollo expuestas a hiperoxia postnatal. *Acta Microscop.* **22**(2):160–8.

Russo MW, Scobey M, and HL Bonkovsky. 2009. Drug-induced liver injury associated with statins. *Semin Liver Dis.* **29**:412-22.

Russo MW, Hoofnagle JH, Gu J, Fontana RJ, Barnhart H, Kleiner DE, Chalasani N, Bonkovsky HL. 2014. Spectrum of statin hepatotoxicity: Experience of the drug-induced liver injury network. *Hepatology.* **60**:679-686.

Sabine JR, and MJ James. 1978. The intracellular mechanism responsible for dietary back control of cholesterol synthesis. *Life Sci.* **18**:1185–92.

Saenz SA, Taylor BC, and D Artis. 2008. Welcome to the neighborhood: epithelial cell-derived cytokines license innate and adaptive immune responses at mucosal sites. *Immunol Rev.* **226**:172–90.

Samuel BS, Shaito A, Motoike T, Rey FE, Backhed F, Manchester JK, Hammer RE, Williams SC, Crowley J, Yanagisawa M, Gordon JI. 2008. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc Natl Acad Sci USA.* **105**(43):16767–72.

Sánchez R, Zavala G, Lee B, and N Molina. 2018. Colitis eosinofílica: reporte de un caso clínico. *Acta Gastroenterol Latinoam.* **48**(3):159-162.

Sandahl TD, Gronbaek H, Moller HJ, Stoy S, Thomsen KL, Dige AK, Agnholt J, Hamilton-Dutoit S, Thiel S, Vilstrup H. 2014. Hepatic macrophage activation and the LPS pathway in patients with alcoholic hepatitis: a prospective cohort study. *Am J Gastroenterol.* **109**(11):1749–56.

Sanz Y, M Collado, M Haros, and J Dalmau. 2004. Funciones metabólico- nutritivas de la microbiota intestinal y su modulación a través de la dieta: probióticos y prebióticos. *Acta Ped Esp.* **62**: 520–6.

Sato H, Zhang LS, Martinez K, Chang EB, Yang Q, Wang F, Howles PN, Hokari R, Miura S, and P Tso. 2016. Antibiotics suppress activation of

intestinal mucosal mast cells and reduce dietary lipid absorption in Sprague-Dawley rats. *Gastroenterol.* **151**:923–32.

Sayin SI, Wahlstrom A, Felin J, Jantti S, Marschall HU, Bamberg L, Angelin B, Hyotylainen T, Oresic M, and F Backhed. 2013. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell Metab.* **17**:225–35.

Scheutz F, and N Strockbine. 2005. Genus I. *Escherichia*. In: Brenner, D. The Proteobacteria Part B The Gammaproteobacteria. Springer (2): 607-23.

Schneider KM, Albers S, and C Trautwein. 2018. Role of bile acids in the gut-liver axis. *J Hepatol.* **68**:1083–5.

Scotti E, Boué S, Lo Sasso G, Zanetti F, Belcastro V, Poussin C, Sierro N, Battey J, Gimalac A, Ivanov N, and J Hoeng. 2017. Exploring the microbiome in health and disease: Implications for toxicology. *Toxicol Res App.* **1**:1–37.

Seldenrijk CA, Morson BC, Meuwissen SGM, Schipper NW, Lindeman J, and CJ Meijer. 1991. Histopathological evaluation of colonic mucosal biopsy specimens in chronic inflammatory bowel disease: diagnostic implications. *Gut.* **32**:1514–20.

Semova I, Carten JD, Stombaugh J, MacKey LC, Knight R, Farber SA, and JF Rawls. 2012. Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish. *Cell Host Microbe.* **12**:277–88.

Seril DN, Liao J, Yang GY, and CS Yang. 2003. Oxidative stress and ulcerative colitis-associated carcinogenesis: studies in humans and animal models. *Carcinogenesis*. **24**:353–62

Shapiro DJ, and VW Rodwell. 1971. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and cholesterol synthesis. *J Biol Chem*. **246**:3210–16.

Shefer S, Cheng FW, Hanser S, Batta AT, and G Salen. 1981. Regulation of bile acid synthesis, Measurement of cholesterol 7 α -hydroxylase activity in rat liver microsomal preparations in the absence of endogenous cholesterol. *Lipid Res*. **22**:532–6.

Shine WE, Silvany R, and JP McCulley. 1993. Relation of cholesterol-stimulated *Staphylococcus aureus* growth to chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. **34**:2291–6.

Shu N, Hu M, Ling Z, Liu P, Wang F, Xu P, Zhong Z, Sun B, Zhang M, Li F, Xie Q, Liu X, Liu L. 2016. The enhanced atorvastatin hepatotoxicity in diabetic rats was partly attributed to the upregulated hepatic Cyp3a and SLCO1B1. *Sci Report*. **6**:33072.

Sies H. 2015. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol*. **4**: 180–3.

Singer AC, Shaw H, Rhodes V, and A Hart. 2016. Review of antimicrobial resistance in the environment and its relevance to environmental regulators. *Front in Microbiol*. **7**:Article 1728.

Sollid LM. 2002. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nat Rev Immunol.* **2**:647–55.

Sonnenburg JL, Xu J, Leip DD, Chen CH, Westover BP, Weatherford J, Buhler JD, Gordon JI. 2005. Glycan foraging *in vivo* by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science.* **307**(5717):1955–9.

Spector AA, and MA Yorek. 1985. Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res.* **26**:1015–35.

Stancu C, and A Sima. 2001. Statins: mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med.* **5**(4):378–87.

Stephen A, and J Cummings. 1980. The microbial contribution to human faecal mass. *J Med Microbiol.* **13**:45–56.

Strasinger SK, and MS Di Lorenzo. 2010. Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales. Editoria Médica Panamericana. 5 Edición. 299 pp.

Stratton J, and M Younes. 2017. Ulcerative Colitis Pathology. Medscape. Consulted 8/5/2021. <https://emedicine.medscape.com/article/2005396-print>.

Sudhop T, Lütjohann D, Kodal A, Igel M, Tribble DL, Sukrut S, Shah S, Perevozskaya I, von Bergmann K. 2002. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation.* **106**:1943–8.

Swann JR, Want EJ, Geier FM, Spagou K, Wilson ID, Sidaway JE, Nicholson JK, and E Holmes. 2011. Systemic gut microbial modulation of

bile acid metabolism in host tissue compartments. *Proc Natl Acad Sci USA*. **108**(Suppl 1):4523–30.

Tabaqchali S, O'Donoghue DP, and KA Bettelheim. 1978. *Escherichia coli* antibodies in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* **19**:108–13.

Takeuchi K, Maiden L, and I Bjarnason. 2004. Genetic aspects of intestinal permeability in inflammatory bowel disease. *Novartis Found. Symp.* **263**:151–158. discussion 159-163, 211-158.

Taub R. 2004. Liver regeneration: From myth to mechanism. *Nat Rev Mol Cell Biol.* **5**:836–47.

Thadepalli H, Lou MA, Bach VT, Matsui TK, and AK Mandal. 1979. Microflora of the human small intestine. *Am J Surg.* **138**:845–50.

Thangamani S, Mohammad H, Abushahba MF, Hamed MI, Sobreira TJ, Hedrick VE, Paul LN, and MN Seleem. 2015. Exploring simvastatin, an antihyperlipidemic drug, as a potential topical antibacterial agent. *Sci Rep.* **5**:16407.

Thomsen RW, Hundborg HH, Johnsen SP, Pedersen L, Sorensen HT, Schonheyder HC, Lervang HH. 2006. Statin use and mortality within 180 days after bacteremia: a population-based cohort study. *Critical care medicine.* **34**(4):1080–6.

Tilg H, Moschen AR, and A Kaser. 2009. Obesity and the microbiota. *Gastroenterol.* **136**(5):1476–83.

Towle HC. 2001. Glucose and cAMP: adversaries in the regulation of hepatic gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA.* **98**(24):13476–8.

Tran TH, and H Li. 2014. Olmesartan and drug-induced enteropathy. *J Formul Manag.* **39**:47–50.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, and JI Gordon. 2007. The human microbiome project. *Nature.* **449**:804.

Turnbaugh PJ, Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Knight R, and JI Gordon. 2009. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomics analysis in humanized gnotobiotic mice. *Sci. Transl. Med.* **1**:6ra14.

Turnbaugh PJ, Quince C, Faith JJ, McHardy AC, Yatsunenko T, Niazi F, Affourtit J, Egholm M, Henrissat B, Knight R, and JI Gordon. 2010. Organismal, genetic, and transcriptional variation in the deeply sequenced gut microbiomes of identical twins. *Proc Natl Acad Sci USA.* **107**:7503–8.

van den Bogert B, Boekhorst J, Herrmann R, Smid EJ, Zoetendal EG, and M Kleerebezem. 2013. Comparative genomics analysis of *Streptococcus* isolates from the human small intestine reveals their adaptation to a highly dynamic ecosystem. *PLoS ONE.* **8**:e83418.

Vanhaecke L, Vercruyse F, Boon N, Verstraete W, Cleenwerck I, Wachter MD, De Vos P, and T van de Wiele. 2008. Isolation and characterization of human intestinal bacteria capable of transforming the

dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine. *Appl Env Microbiol.* **74**:1469–77.

Velasco J, Araque M, Araujo E, Longa A, Nieves B, Ramírez A, Sánchez K, and E Velazco. 2008. *Manual Práctico de Bacteriología Clínica.* Universidad de los Andes. Mérida.

Venter CS. 1990. Effects of dietary propionate on carbohydrate and lipid-metabolism in healthy volunteers. *Am J Gastroenterol.* **85**(5):549–53.

Verkarre V, Asnafi V, Lecomte T, Patey-Mariaud N, Leborgne M, Grosdidier E, Le Bihan C, Macintyre E, Cellier C, Cerf-Bensussan N, and N Brousse. Refractory coeliac sprue is a diffuse gastrointestinal disease. *Gut.* 2003. **52**:205–11.

Vieira-Silva S, Falony G, Belda E, Nielsen T, Aron-Wisnewsky J, Chakaroun R, Forslund SK, Assmann K, Valles-Colomer M, Nguyen, TTD, Proost S, Prifti E, Tremaroli V, Pons N, Le Chatelier E, Andreelli F, Bastard JP, Coelho LP, Galleron N, Hansen TH, Hulot JS, Lewinter C, Pedersen HK, Quinquis B, Rouault C, Roume H, Salem JE, Søndertoft NB, Touch S; MetaCardis Consortium, Dumas ME, Ehrlich SD, Galan P, Gøtze JP, Hansen T, Holst JJ, Køber L, Letunic I, Nielsen J, Oppert JM, Stumvoll M, Vestergaard H, Zucker JD, Bork P, Pedersen O, Bäckhed F, Clément K, Raes J. 2020. Statin therapy is associated with lower prevalence of gut microbiota dysbiosis. *Nature.* **581**:310–15.

Vinogradov AE, Anatskaya OV, and BN Kudryavtsev. 2001. Relationship of hepatocyte ploidy levels with body size and growth rate in mammals. *Genome.* **44**:350–60.

Volk EE, Shapiro BD, Easley KA, and JR Goldblum. 1998. The clinical significance of a biopsy-based diagnosis of focal active colitis: A clinicopathologic study of 31 cases. *Mod Pathol.* **11**:789–94.

Volk N, and B Lacy. 2017. Anatomy and physiology of the small bowel. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* **27**:1–13.

Wales AD, Davies RH. 2015. Co-selection of resistance to antibiotics, biocides and heavy metals, and its relevance to foodborne pathogens. *Antibiotics.* **4**:567–604.

Walmsley RS, Anthony A, Sim R, Pounder RE, and AJ Wakefield. 1998. Absence of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Klebsiella pneumoniae* antigens within inflammatory bowel disease tissues. *J Clin Pathol.* **51**:657–61.

Wang M-J, Chen F, Lau J, and Y-P Hu. 2017. Hepatocyte polyploidization and its association with pathophysiological processes. *Cell Death Dis.* **8**:e2805.

Welsh AM, Kruger P, and J Faoagali. 2009. Antimicrobial action of atorvastatin and rosuvastatin. *Pathology.* **41**(7):689–91.

Williams, JM, Duckworth CA, Burkitt MD, Watson AJ, Cambell BJ, Pritchard DM. 2015. Epithelial cell shedding and barrier function: a matter of life and death at the small intestinal villus tip. *Vet Pathol.* **52**:445–55.

Wilmanski T, Kornilov SA, Diener C, Conomos M, Lovejoy JC, Sebastiani P, Orwoll ES, Hood L, Price ND, Rappaport N, Magis AT, and

SM Gibbons. 2021. Heterogeneity in statin responses explained by variation in the human gut microbiome. medRxiv.12.02.21267193.

Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC, Emam A, and DJA Jenkins. 2006. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. J Clin Gastroenterol. **40**(3):235–43.

Xia G, Kohler T, and A Peschel. 2010. The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. Inter J Med Microbiol. **300**:148–54.

Xiong YM, Miyamoto N, Shibata K, Valasek MA, Motoike T, Kedzierski RM, Yanagisawa M. 2004. Short-chain fatty acids stimulate leptin production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41. Proc Natl Acad Sci USA. **101**(4):1045–50.

Xu J, and JI Gordon. 2003. Honor thy symbionts. Proc Natl Acad Sci **100**:10452–9.

Xu J, Bjursell MK, Himrod J, Deng S, Carmichael LK, Chiang HC, Hooper LV, Gordon JI. 2003. A genomic view of the human–*Bacteroides thetaiotaomicron* symbiosis. Science. **299**(5615):2074–6.

Yu, Y., Sitaraman, S. & Gewirtz, A. T. 2004. Intestinal epithelial cell regulation of mucosal inflammation. Immunol Res. **29**:55–68.

Yu W, Lu Y, Shen Y, Liu J, Gong S, Yu F, Huang Z, Zou W, Zhou M, Luo X, You W, and C Ke. 2022. Exploring the intestinal microbiota and

metabolome profiles associated with feed efficiency in pacific abalone (*Haliotis discus hanna*). *Front Microbiol.* **13**:852460.

Yuzefpolskaya M, Demmer RT, Trinh PN Akter N, Royzman E, Nwokocha J, Onat D, Zuver A, Clemons A, Pinsino A, Castagna F, Garan A, Topkara V, Brunjes D, Takeda K, Takayama H, Naka Y, Farr M, Uhlemann A-C, and P Colombo. 2017. Left ventricular assist devices and heart transplantation reduces gut dysbiosis, endotoxemia, inflammation and oxidative stress in advanced heart failure patients. Abstract 18827. *Circulation.* **136**(1):A18827.

Zabana Y, Domènech E, Latorre N, Ojanguren I, Mañosa M, and MA Gassull. 2007. Apendicitis aguda en colitis ulcerosa extensa e inactiva. *Gastroenterol Hepatol.* **30**(2):69–73.

Zandieh A, Payabvash S, Pasalar P, Morteza A, Zandieh B, Tavangar SM. 2011. Gadolinium chloride, a kupffer cell inhibitor, attenuates hepatic injury in a rat model of chronic cholestasis. *Hum Exp Toxicol.* **30**:1804–10.

Zhao J, Ling Y, Zhang R, Ke CH, and G Hong. 2018. Effects of dietary supplementation of probiotics on growth, immune responses, and gut microbiome of the abalone *Haliotis diversicolor*. *Aquaculture.* **493**:289–95.

Zhao C, Hu Y, Chen H, Li B, Cao L, Xia J, and Y Yin. 2020. An *in vitro* evaluation of the effects of different statins on the structure and function of human gut bacterial community. *PLoS ONE.* **15**:e0230200.

Zheng X, Wang S, and W Jia. 2018. Calorie restriction and its impact on gut microbial composition and global metabolism. *Front Med.* **12**(6):634–44.

Zhernakova A, Kurilshikov A, Bonder MJ, Tigchelaar EF, Schirmer M, Vatanen T, Mujagic Z, Vila AV, Falony G, Vieira-Silva S, Wang J, Imhann F, Brandsma E, Jankipersadsing SA, Joossens M, Cenit MC, Deelen P, Swertz MA, LifeLines Cohort Study, Weersma RK, Feskens EJ, Netea MG, Gevers D, Jonkers D, Franke L, Aulchenko YS, Huttenhower C, Raes J, Hofker MH, Xavier RJ, Wijmenga C, and J Fu. 2016. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science.* **352**:565–9

Zimmermann M, Zimmermann-Kogadeeva M, Wegmann R, and AL Goodman. 2019. Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes. *Nature.* **570**:462–7.

Zoetendal EG, Raes J, van den Bogert B, Arumugam M, Booijink CC, Troost FJ, Bork P, Wels M, de Vos WM, M Kleerebezem. 2012. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. *ISME J.* **6**:1415–26.

Hoja de Metadatos

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	IMPACTO DE ATORVASTATINA SOBRE LA HISTOLOGÍA DEL INTESTINO, EL HÍGADO Y LA MICROBIOTA INTESTINAL EN <i>Rattus norvegicus</i> SPRAGUE DAWLEY
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
	Abadía P., Lorena	CVLAC
e-mail		biociencia2013@gmail.com
e-mail		
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Escherichia coli</i>, <i>Enterococcus</i>, duodeno, yeyuno, íleon, colon, atorvastatina, microbiota intestinal, resistencia bacteriana, disbiosis, metaboloma, AGCC

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
IIBCAUDO	Dpto. de Biomedicina

Resumen (abstract):

Introducción: El uso de atorvastatina está ampliamente extendido en la población adulta con trastornos de dislipidemia. Recientemente, se conoció que las estatinas, tienen actividad antibacteriana. Por esta razón, se estudió el efecto de atorvastatina sobre el intestino (hábitat de la microbiota intestinal) y el hígado, centro de la síntesis de los lípidos. Metodología: Se hizo un estudio experimental *in vivo* con un grupo control y uno con atorvastatina durante seis meses, en ratas machos adultos Sprague Dawley. Todos los especímenes recibían la misma cantidad y el mismo tipo de alimento por jaula. Se tomaron hisopados rectales a todas las ratas, al inicio del estudio y cada mes, hasta el sexto mes. Los hisopos fueron sembrados en agar EMB, para aislar cepas de *Escherichia coli* y en agar BHI, suplementado con gentamicina y 6.5% de NaCl para aislar cepas de *Enterococcus* spp. Al sexto mes del estudio, las ratas fueron sacrificadas, para obtener los intestinos e hígados, para su preparación en bloques de

resina epóxica y posterior estudio histológico al microscopio óptico. El porcentaje de asimilación se realizó pesando los alimentos y la materia fecal de las ratas. Luego, todas las muestras fueron secadas e incineradas. Los resultados fueron recolectados en un documento Excel. Resultados: La atorvastatina administrada durante seis meses a las ratas Sprague Dawley, provocó daños estructurales en el intestino (duodeno, yeyuno, íleon y colon), variando de moderado a severo, dependiendo del tramo del intestino, así como, en el hígado, con respecto a las ratas controles. Los infiltrados linfocitarios demostraron procesos inflamatorios crónicos en el intestino. En los cortes histológicos de los hígados de las ratas tratadas con atorvastatina, se observaron cúmulos de color oscuro, correspondientes a mitocondrias extracelulares por la necrosis total de hepatocitos, además de sinusoides hepáticos edematizados y presencia de abundantes células de Kupffer. Después de la administración de atorvastatina, las ratas tuvieron un promedio de 142.4 hepatocitos binucleados, mientras que las ratas controles tenían 25.4. La diferencia de las varianzas, al igual que la diferencia de medias (por la prueba T de Student) provenientes del grupo de ratas control versus el grupo de ratas que recibió atorvastatina es significativa ($p=0.033$ y $p=0.000$, respectivamente), por lo que se infiere, que, las diferencias observadas sobre los hepatocitos binucleares, no parece ser debida al azar. El mismo comportamiento estadístico fue observado con el incremento de las células de Kupffer en las ratas bajo tratamiento. Con respecto a las heces de las ratas, aquellas provenientes de los controles, eran más voluminosas (91.21 mg), que las de las ratas tratadas con atorvastatina (33.45 mg). El porcentaje de asimilación varió en las ratas controles (87%) con respecto a las que estaban bajo tratamiento con atorvastatina (54%). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con el porcentaje de asimilación. La cantidad de bacterias presentes en las ratas tratadas con atorvastatina, fue menor que en las ratas controles. No se observaron diferencias significativas. En las ratas bajo tratamiento con atorvastatina, se observó crecimiento de *E. coli* en los cuatro cuadrantes de la placa el primer mes, pero en menor cantidad al observado en las ratas controles. A partir del segundo mes de tratamiento, el crecimiento bajó a dos cuadrantes y el tamaño de las colonias se redujo. En las ratas tratadas con atorvastatina, se vio una disminución del tamaño de las colonias de *Enterococcus* y el crecimiento fue disminuyendo paulatinamente, con el paso de los meses. Conclusión: El uso prolongado de atorvastatina, creó disbiosis intestinal, al destruir la estructura histológica del intestino, hábitat de la microbiota intestinal.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Profa. María del Carmen Araque	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Profa. Marisol Sandoval	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
Profa. Armindo Perozo-Mena	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2022		

Lenguaje: Spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Ascenso-abadíapl.doc	

Alcance:

Espacial: Nacional _____ (Opcional)

Temporal: Temporal _____ (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Trabajo de Ascenso

Nivel Asociado con el Trabajo: Titular _____

Área de Estudio:

Microbiota intestinal

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

Derechos:

Yo, Lorena Abadía-Patiño, C. I 10952465, autorizo a la UDO a que publique el resumen del trabajo de ascenso, presentado por mi persona, reservándome los derechos comerciales que este en algún momento pudiera devengar.



Dra. Lorena Abadía Patiño
AUTOR