



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Efecto de la ingesta elevada de fructosa sobre las toxinas urémicas de origen intestinal

Alumno: Laura Hoces Martínez

Julio, 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN



Grado en Biología
Trabajo Fin de Grado

Efecto de la ingesta elevada de fructosa sobre las toxinas urémicas de origen intestinal

Alumno: Laura Hoces Martínez

Una firma manuscrita en tinta azul que dice "Laura.hm" con un círculo alrededor y una flecha que apunta a la derecha.

Julio, 2020

RESUMEN

La ingesta elevada de fructosa supone un gran peligro para la composición de la microbiota intestinal que cuando se ve alterada produce efectos perjudiciales sobre la salud humana. Uno de ellos es el aumento de toxinas urémicas de origen intestinal, en nuestro caso estudiamos el incremento de indoxil sulfato (IS) en muestras de plasma en ratas. Para ello realizamos la determinación de dicha toxina mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección de fluorescencia y realizamos un análisis entre las muestras control y las muestras sometidas a una ingesta elevada de fructosa, no encontrando diferencias significativas. Asimismo, analizamos los niveles de creatinina en plasma por el método de Jaffé con el autoanalizador Spin 120 ya que la ingesta de fructosa también produce disfunción renal, sin embargo, tampoco encontramos diferencias significativas entre los niveles de fructosa y creatinina. Para finalizar nuestro estudio, llevamos a cabo la correlación entre el IS y la creatinina para entender los efectos del IS en la función renal. A pesar de no tener correlación ni diferencias significativas, debemos de cuidar nuestra microbiota intestinal mediante la alimentación.

Palabras clave: microbiota intestinal, toxinas urémicas, indoxil sulfato (IS), fructosa, creatinina, disfunción renal.

ABSTRACT

The high intake of fructose poses a great danger to the composition of the gut microbiota, which, when altered, produces harmful effects on human health. One of them is the increase in uremic toxins of intestinal origin, in our case we studied the increase of indoxyl sulfate in plasma samples in rats. For this purpose, we performed the determination of this toxin by high-performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection, and we performed an analysis between the control samples and the samples subjected to a high intake of fructose, not finding significant differences. Likewise, we analyzed plasma creatinine levels by the Jaffé method with the Spin 120 autoanalyzer since fructose intake also produces renal dysfunction, however, we also found no significant differences fructose and creatinine levels. To conclude our study, we performed the correlation between IS and creatinine to understand the effects of indoxyl sulfate on renal function. Despite not having any

correlation or significant differences, we must take care of our gut microbiota by feeding.

Keywords: gut microbiota, uremic toxins, indoxyl sulfate (IS), fructose, creatinine, renal dysfunction.

RESUMEN

1.	INTRODUCCION.....	pág 6
1.1.	Microbiota intestinal.....	pág 6
1.2.	La composición de la microbiota intestinal influenciada por la dieta.....	pág 9
1.3.	Toxinas urémicas y su impacto en la salud.....	pág 14
1.4.	Implicaciones del consumo de fructosa en la salud.....	pág 17
2.	HIPOTESIS.....	pág 19
3.	OBJETIVOS.....	pág 20
4.	METODOLOGIA.....	pág 20
4.1.	Materiales y reactivos.....	pág 21
4.2.	Solución stock y estándar interno.....	pág 21
4.3.	Elaboracion de la curva patrón y condiciones cromatográficas.....	pág 21
4.4.	Preparación de las muestras.....	pág 22
4.5.	Análisis estadísticos.....	pág 22
5.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	pág 22
5.1.	Determinacion de IS.....	pág 22
5.1.1.	<i>Curva patrón.....</i>	<i>pág 22</i>
5.1.2.	<i>Indoxil sulfato y fructosa.....</i>	<i>pág 24</i>
5.2.	Determinacion de creatinina.....	pág 26
5.2.1.	<i>Creatinina y fructosa.....</i>	<i>pág 26</i>
5.3.	Correlación IS-creatinina.....	pág 28
6.	CONCLUSION.....	pág 29
7.	BIBLIOGRAFIA.....	pág 29

1. INTRODUCCION

“El microbioma humano se refiere a la población total de microorganismos con sus genes y metabolitos que colonizan el cuerpo humano, incluyendo el tracto gastrointestinal, el genitourinario, la cavidad oral, la nasofaringe, el tracto respiratorio y la piel” (Petrosino *et al.*, 2009).

En este caso, nos centraremos sobre la población que habita en el tracto gastrointestinal, ya que “más del 95% de la microbiota humana se localiza en él”, a pesar de que la distribución es muy heterogénea, pues “depende de la excreción de bilis y jugo pancreático, del peristaltismo, de la secreción de mucina que contiene IgA, del pH, de los genes, de la disponibilidad de nutrientes, de la tensión de oxígeno, del antagonismo bacteriano y de la presencia de receptores celulares para la adhesinas bacterianas”, y no de menos importancia, pues profundizaremos en este factor: de la dieta (Martín, 2017).

1.1. Microbiota intestinal

Aunque los términos "microbiota" y "microbioma" a menudo se usan indistintamente, son términos completamente distintos, la microbiota se refiere a los organismos que comprenden la comunidad microbiana, mientras que el microbioma a los genomas colectivos de los microbios, que están compuestos de bacterias, bacteriófagos, hongos, protozoos, y virus que viven dentro y en el cuerpo humano (Khan *et al.*, 2016).

Por lo tanto, teniendo en cuenta la definición de ambos conceptos y llevándolos a nuestro tema principal, “el ecosistema microbiano del intestino (microbiota intestinal) incluye muchas especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal, y una serie variable de microorganismos que solo lo hacen de manera transitoria”, por lo que, por otra parte, “al conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos se le denomina microbioma intestinal” (Icaza-Chávez, 2013).

El intestino humano alberga billones de microbios de todos los dominios de la vida: eucariotas, bacterias y arqueas, con un predominio de células bacterianas (Baquero & Nombela, 2012). Conforme avanzamos por el tracto gastrointestinal la abundancia de las bacterias va variando dependiendo de una serie de factores, en el

caso del estómago esta densidad es relativamente baja ($<10^3$ ufc/ml) “debido al pH, a la existencia de enzimas y de ácido clorhídrico”, encontrándonos microorganismos de la flora orofaríngea como los *Streptococcus α -hemolíticos*, los *Lactobacillus sp.*, y la *Candida sp.* (García et al., 2012). La densidad va aumentando conforme avanzamos por el tracto gastrointestinal, pero sigue habiendo una distribución desigual tanto en la densidad como en la composición microbiana a lo largo de ambos intestinos. En el intestino delgado, concretamente en el duodeno y en el yeyuno, debido a que se sigue manteniendo el pH ácido, además de “por la elevada actividad peristáltica, por la secreción de bilis que tiene propiedades antimicrobianas, y otras sustancias como la lisozima e IgA”, provocan que haya una baja concentración de microorganismos ($10^3 - 10^5$ ufc/ml), sin embargo, en el íleon se produce un aumento en la densidad bacteriana alcanzándose concentraciones de $10^6 - 10^8$ ufc/ml de contenido intestinal (García et al., 2012). “La localización con mayor densidad microbiana” se encuentra en el intestino grueso consecuente de “la disminución del contenido en agua, la disminución del peristaltismo y un pH cercano al fisiológico” que hace que haya unas concentraciones de $10^9 - 10^{12}$ ufc/ml en la última parte del sistema digestivo, el colon (Blaut & Clavet, 2007; García et al., 2012).

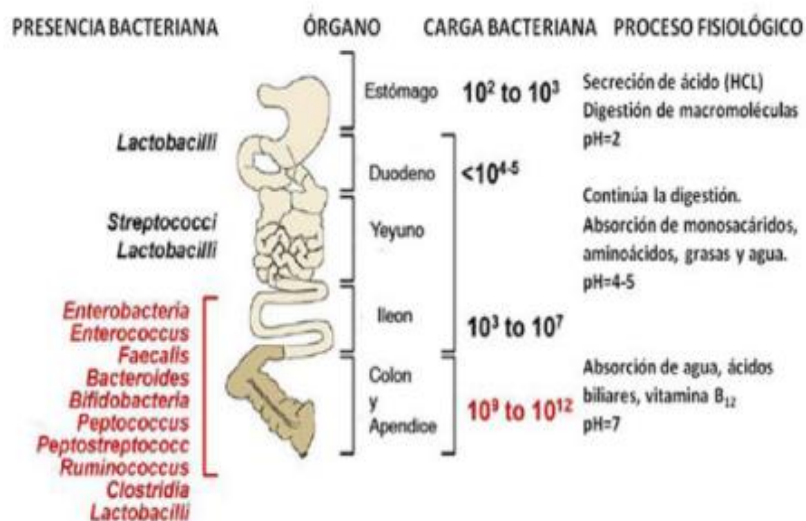


Figura 1. Aparato digestivo: flora bacteriana y proceso fisiológico. (García et al., 2012)

Gracias a los avances en el análisis metagenómico y en la secuenciación del gen del ARN ribosómico 16S se ha demostrado que *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Spirochaetae* y *Verrucomicrobia* son los filos bacterianos predominantes entre las bacterias intestinales en adultos (Chan et

al., 2013), predominando el filo *Firmicutes* que comprende bacterias Gram positivas de > 200 géneros presentes en el intestino delgado, y el filo *Bacteroidetes* que comprende bacterias Gram negativas de 20 géneros presentes en el intestino grueso (Bull & Plummer, 2014; Tremaroli & Bäckhed, 2012).

Asimismo, “las investigaciones del Proyecto Microbioma Humano estadounidense y del proyecto MetaHIT europeo han revolucionado el mundo de la ciencia” confirmando que “la simbiosis entre el hombre y su microbiota hace posible su propia supervivencia” (Sanz *et al.*, 2004). Diversos estudios demuestran que un “desequilibrio o alteración en la microbiota intestinal (disbiosis)”; ya sea “cualitativa, predominio de especies distintas a las habituales” o “cuantitativa, menos concentración de bacterias beneficiosas” (Dominguez-Bello *et al.*, 2011), puede causar que dichas bacterias adquieran virulencia y asociarse “a trastornos gastrointestinales y al desarrollo de enfermedades metabólicas como la obesidad y la diabetes” (Bull & Plummer, 2014; Carlucci *et al.*, 2016; Lau *et al.*, 2015; Nagao-Kitamoto *et al.*, 2016; McPhee & Schertzer, 2015). Además de estar relacionado con varias condiciones clínicas como la enfermedad del hígado graso, aterosclerosis, enfermedades alérgicas, enfermedades autoinmunes y cáncer (Arslan, 2014; Knights *et al.*, 2013; Zoetendal *et al.*, 2006).

Arumugam *et al.* expresaron “el concepto de enterotipos, con la idea de clasificar las distintas microbiotas del intestino humano, basándose en la composición de sus comunidades bacterianas y su abundancia en los diversos géneros bacterianos” (Diaz Heijtz *et al.*, 2011). Facilitando la agrupación de los distintos estados de equilibrio o simbiosis, así como de poder agrupar las distintas comunidades microbianas con las condiciones asociadas a la disbiosis dentro de los distintos enterotipos. Establecieron tres enterotipos; el primer enterotipo está enriquecido por *Bacteriodes* que “obtienen la energía principalmente de los hidratos de carbono y proteínas mediante fermentación”, debido a su “amplio potencial sacarolítico y a que sus genes codifican para enzimas (galactosidasas, hexosaminidasas, proteasas) implicadas en la degradación de este tipo de sustratos”. Además, “participan en la glicolisis y la vía de la pentosa fosfato”. El segundo enterotipo enriquecido por *Prevotella*, la cual participa “degradando glicoproteínas de mucina presentes en la capa mucosa del intestino” haciendo sinergia con *Desulfovibrio* que “favorece el paso limitante de la degradación mediante la desulfatación de mucina”. Por último, el tercer enterotipo enriquecido en

Ruminococcus capaces de “degradar la mucina y participar en transportadores de membrana, sobre todo de azúcares simples” (Arumugam *et al.*, 2011).

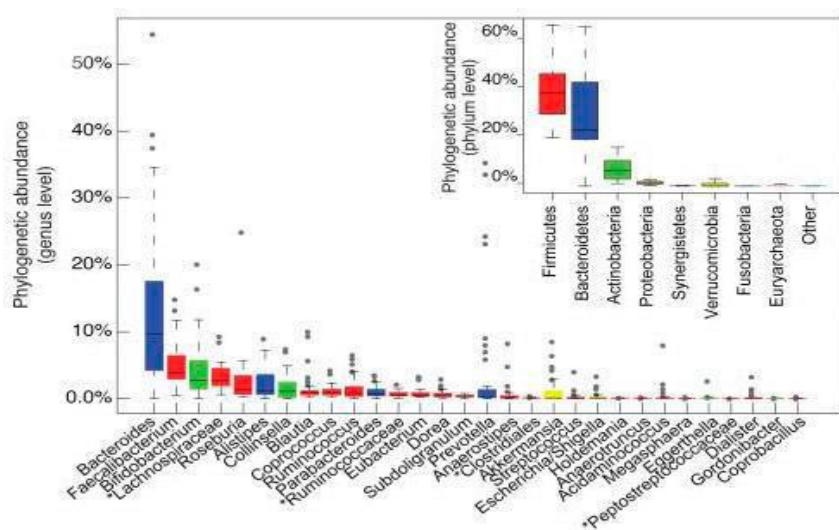


Figura 2. Porcentaje de la abundancia de los géneros y filos bacterianos presentes en el ser humano. (Arumugam *et al.*, 2011)

1.2. La composición de la microbiota intestinal influenciada por la dieta

Antiguamente se pensaba que el intestino era estéril durante la vida fetal, sin embargo, el hallazgo de ADN microbiano en heces de lactantes prematuros ofrece la oportunidad de explorar más a fondo el entorno microbiano de recién nacidos (DiGiulio, 2012), y de comprender como desde el nacimiento, “la microbiota intestinal contribuye en el desarrollo de la función intestinal”, pues “educa al sistema inmune, participa en la regulación y mantenimiento de la barrera intestinal”, además de proporcionar protección contra la infección y de promover la tolerancia de los alimentos (Goulet, 2015). Asimismo, “la microbiota está en contacto con un importante número de células neuronales y de células inmunológicas que dirigen la maduración del sistema inmune desde la infancia y contribuyen en el mantenimiento de su homeostasis durante toda la vida” (Tojo *et al.*, 2014).

Por ende, este hecho explica la enorme importancia de la dieta en la relación simbiótica entre los microorganismos intestinales y del propio huésped en los que estos habitan, y que contribuirán en su salud; pues la dieta “influye y modula la estructura y composición de las comunidades microbianas”, incluso en el nacimiento (Álvarez-Calatayud *et al.*, 2018). La colonización microbiana desde el nacimiento, será diferente dependiendo de diversos factores como son el modo de parto (vaginal o

cesárea), del entorno (rural o urbano) donde se crezca, del país (desarrollado o subdesarrollado) donde se habite, el uso de antibióticos tomados, y del más significativo, el tipo de lactancia (Álvarez-Calatayud *et al.*, 2018; Boulangé *et al.*, 2016). Pues, en varios estudios se han observado que los niños que toman lactancia materna tienen como género bacteriano predominante a las *Bifidobacterias* durante sus primeras semanas de vida, sin embargo, hay una mayor presencia *Enterobacteriaceae* y *Enterococcus* en niños alimentados con lactancia artificial (Ruiz *et al.*, 2010).

Otro factor que condiciona nuestra microbiota intestinal desde la infancia es el paso de la lactancia a la alimentación sólida. Se empiezan a producir cambios, tras el destete, en la comunidad microbiana al introducir por primera vez en la dieta alimentos de origen vegetal, carne y pescado, produciendo una disminución de *Bifidobacterias* y una transición hacia una microbiota más madura, “dominada por los filos *Bacteroidetes* y *Firmicutes*” (Álvarez-Calatayud *et al.*, 2018).

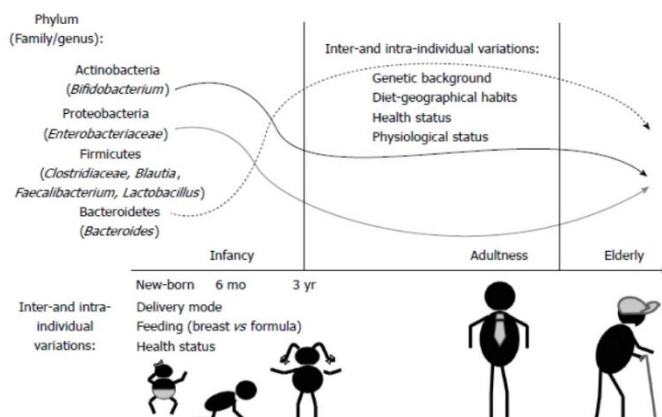


Figura 3. Evolución de la microbiota intestinal según la edad. (Tojo *et al.*, 2014).

Sin embargo, la composición filogenética de la microflora intestinal no es la misma para todos los individuos, esta suele ser igual para aquellos que presenten una dieta similar (Arumugam *et al.*, 2011; Claesson *et al.*, 2011), pues se ha observado que la microbiota de individuos herbívoros es muy diferente a la presente en omnívoros o carnívoros. Este dato de gran importancia se ha observado en un estudio llevado a cabo por Wu *et al.*, en el que se ha comparado la dieta típica de dos sociedades muy dispares; por un lado, una tribu de Tanzania, cuya población se basa en una alimentación rica en fibra pero escasa en grasas, presentando un predominio en el género *Prevotella*, las cuales están adaptadas a “recuperar la energía y

nutrientes de alimentos ricos en fibra vegetal” y por otro, una sociedad más industrializada, la cual en cambio, presenta un predominio de *Bacteroides* debido al consumo elevado de alimentos proteicos y grasos, que presentan un gran contenido energético (Wu *et al.*, 2011). De gran interés para reforzar lo dicho anteriormente es el estudio realizado por De Filippo *et al.*, en el que se comparó la microbiota de niños africanos con niños europeos, obteniendo los mismos resultados, ya mencionados, ante la notable diferencia entre las comunidades microbianas dependiendo de si se trata de una dieta agraria u occidental (De Filippo *et al.*, 2010), siendo un marcador de régimen dietético propio de áreas rurales y de cultura agraria la presencia de *Prevotella* en la microbiota intestinal, mientras que la presencia de *Bacteroides* es característico en regiones industrializadas. (Wu *et al.*, 2011).

Por lo tanto, “la ingesta de proteínas y grasa animal junto con la carencia de consumo de fibra dietética incrementa la presencia de microorganismos tolerantes a las sales biliares (*Alistipes*, *Bilophila* y *Bacteroides*) y decrecen los niveles de especies que metabolizan carbohidratos complejos (*Roseburia*, *Eubacterium rectale* y *Ruminococcus bromii*)”, por el contrario, “las especies fermentativas son características en individuos que tienen un consumo abundante de frutas, verduras y vegetales” (Álvarez-Calatayud *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2011).

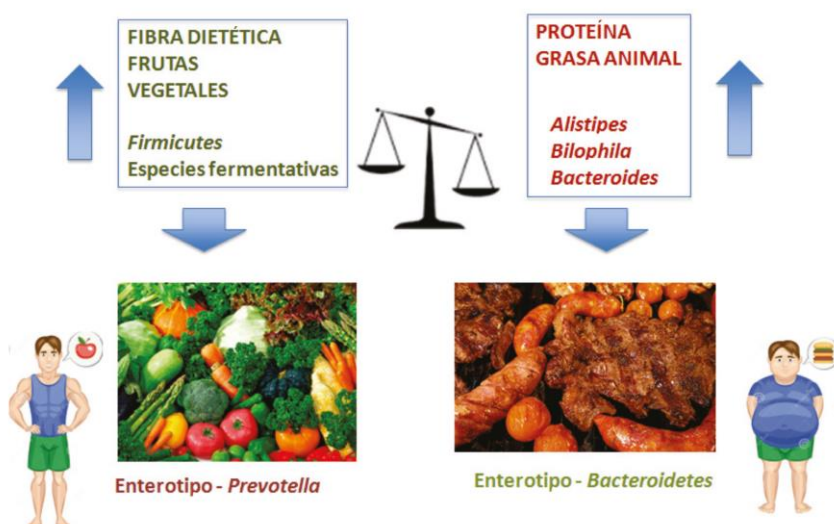


Figura 4. Relación desigual entre los enterotipos Prevotella y Bacterioides según el tipo de dieta. (Álvarez-Calatayud *et al.*, 2018)

Un caso en particular, son las dietas de adelgazamiento puestas tanto de moda en la actualidad, que se basan en ingerir alimentos ricos en proteínas, pero escasos en hidratos de carbono, causando efectos perjudiciales sobre la microbiota, ya que la

fibra dietética presenta efectos antioxidantes que protegen al intestino, mientras que el exceso de proteínas genera metabolitos asociados con la presencia de cáncer (Álvarez-Calatayud *et al.*, 2018). Otro ejemplo, que produce disbiosis son las grasas dietéticas que producen inflamación intestinal, de hecho, Devkota *et al.*, demostraron que el ácido taurocólico derivado de las grasas de las dietas promueve el crecimiento de *Bilophila wadsworthia*, bacteria productora de sulfato de hidrógeno, agente químico tóxico causante de la inflamación en la colitis (Devoss & Diehl, 2014; Devkota *et al.*, 2012). En este mismo contexto, se ha observado que la abundancia significativa de *Bacteroides fragilis* en individuos con dieta rica en grasa o carne de res, “se asocia a presentar un mayor riesgo de padecer enfermedades graves como son la enfermedad diarreica aguda, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y el cáncer colorrectal (CCR)” (Hentges *et al.*, 1977; Sears, 2009; Zhang *et al.*, 2012), estas enfermedades comprenden a su vez otras patologías como son “la Colitis Ulcerosa (UC) y la enfermedad de Crohn (EC)”. Dichas enfermedades son más virulentas si el individuo toma una dieta con una mayor proporción de carne y alcohol, en el caso de CU, o si el individuo toma un abundante “consumo de alimentos ricos en sacarosa, hidratos de carbono y ácidos grasos poliinsaturados” pero escasos en fruta, verdura y fibra, en el caso de EC. (Neuman & Nanau, 2012; Innis & Jacobson, 2007). Todo esto supone un peligro para la salud humana, pues debido a estas patologías se pierde biodiversidad microbiana y aumenta la proporción de hongos, causando además un aumento en el número de *Actinobacterias* y *Proteobacterias*, y un descenso de *Firmicutes*, cuyo papel fundamental consiste en inhibir el crecimiento de bacterias patógenas (Albenberg *et al.*, 2012; Hammer, 2011).

El cambio en el perfil metabólico intestinal, también se ve reflejado en procesos inflamatorios crónicos, en particular, en la enfermedad celíaca, en la cual se ha comprobado que *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus pasteuri* son más abundantes en muestras de pacientes con dicha enfermedad, al contrario de lo que ocurre con *Streptococcus anginosus* y *Streptococcus mutans* que se muestran en menor cantidad (Sánchez *et al.*, 2013). Asimismo, grasas saturadas presentes en alimentos como la manteca de cerdo, el chocolate, la carne, la mantequilla, etc., están asociadas con la inflamación del tejido adiposo blanco causando un riesgo de producir obesidad y diabetes, aumentando la presencia de *Bilophila wadsworthia*. (Caesar *et al.*, 2015; Patterson *et al.*, 2016; Oh *et al.*, 2010).

A su vez, para contrarrestar todos los efectos negativos, es importante seguir una dieta saludable e intervenciones nutricionales específicas, incluyendo en el día a día, alimentos con gran cantidad de fibra dietética, así como el consumo de probióticos y prebióticos útiles para la restauración de la microbiota intestinal y la prevención de las enfermedades ya mencionadas anteriormente y de muchas otras más (Álvarez-Calatayud *et al.*, 2018).

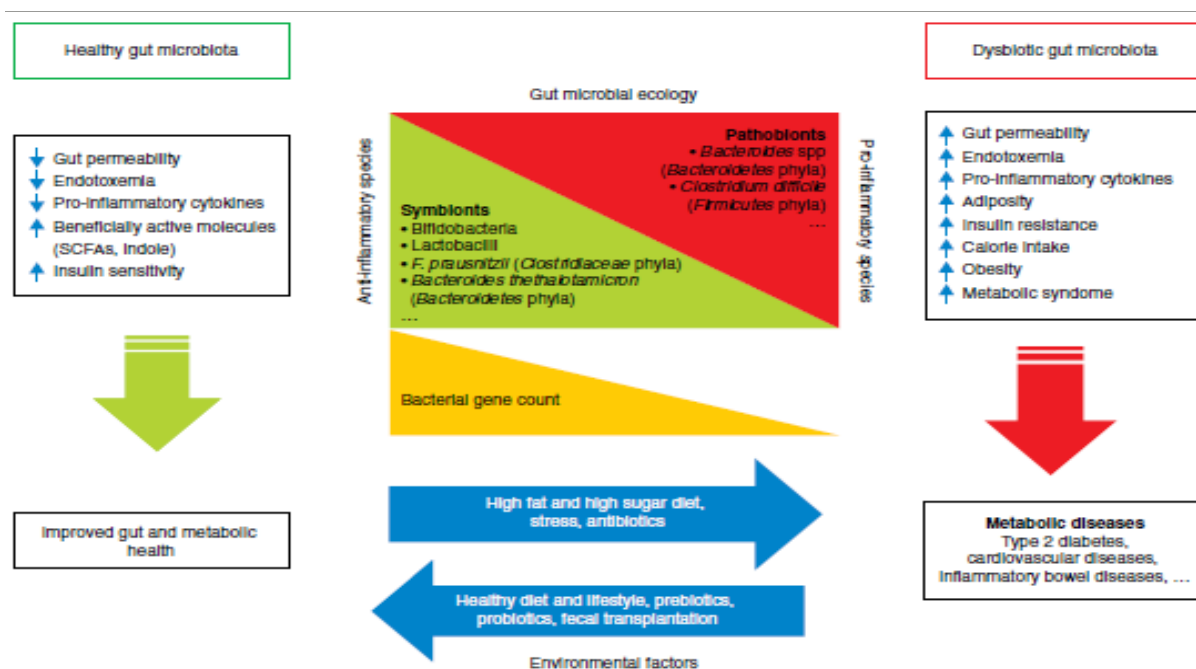


Figura 5. Efectos de una microbiota intestinal sana y la disbiosis en la salud intestinal y metabólica del huésped. (Boulangé *et al.*, 2016)

La administración de prebióticos o probióticos influye positivamente sobre la microbiota intestinal beneficiando la salud humana (Guarner *et al.*, 2011). Como probióticos, “la Organización Mundial de la Salud (OMS) los define como microorganismos vivos, que cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor” (Oliveira & González-Molero, 2007), a este grupo “pertenecen principalmente dos grupos microbianos: *Lactobacilos* y *Bifidobacterias*” (Suárez, 2013). Y como prebiótico, nos referimos “a los ingredientes de los alimentos no digeribles, presentes en la dieta, que estimulan el crecimiento y/o actividad de microorganismos autóctonos, proporcionando un beneficio para la salud del huésped” (Guarner *et al.*, 2011; Oliveira & González-Molero, 2007; Suárez, 2013), este grupo estructuralmente son “oligo o polisacáridos de fructosa, galactosa y derivados” (Suárez, 2013).

En definitiva, debido al papel que ejerce la microbiota sobre el hombre a la hora de metabolizar los alimentos mediante la fermentación de los residuos de la dieta, nos permite obtener nutrientes a través de la producción de enzimas y rutas metabólicas de las cuales carecemos sin ella.

Además, “la microbiota intestinal recupera la energía de la dieta a través de la producción de ácidos grasos de cadena corta por fermentación de carbohidratos: acetato, butirato y propionato”, proporcionando una fuente energética a las células. Pues muchos de los ingredientes de los alimentos que ingerimos no son absorbidos por el propio organismo, sino que son utilizados para la actividad metabólica de la microbiota intestinal, cuyo fin es el producir moléculas beneficiosas para el individuo (David *et al.*, 2014). Y no de menor importancia, es el papel de la microbiota intestinal en la restricción del crecimiento de bacterias patógenas y en la degradación de toxinas urémicas de origen intestinal (Sanz *et al.*, 2004).

1.3. Toxinas urémicas y su impacto en la salud

En nefrología, se entiende como toxinas urémicas a “todos aquellos compuestos que se acumulan y causan alteraciones bioquímicas-físicas en pacientes con enfermedad renal” (Vázquez *et al.*, 2003). Para considerar un compuesto como toxina urémica debe de cumplir con los siguientes criterios: 1) “Su identidad química y su precisión en los fluidos biológicos debe de ser cuantificable”. 2) “Su concentración debe exceder en relación a sujetos no urémicos”. 3) “Su concentración debe correlacionarse con los efectos tóxicos y los síntomas urémicos”. 4) “Su concentración al disminuir debe causar la desaparición de los síntomas” (Vázquez *et al.*, 2003)

Dichas toxinas se clasifican según su tamaño molecular y su unión a proteínas (Vanholder *et al.*, 2003), pues las bacterias intestinales degradan las proteínas en metabolitos como son el amonio, aminos, tioles, fenoles e índoles, los cuales en su mayoría son excretados a través de la orina o de las heces, pero una parte de ellos son absorbidos y acumulados en el plasma (Evenepoel *et al.*, 2009; Vanholder *et al.*, 2008). Incluso muchos de estos compuestos en casos de enfermedad renal crónica (ERC), son eliminados por terapia dialítica, pero muchos otros tienen una eliminación limitada debido a su unión a proteínas (Dhondt *et al.*, 2000; Meijers & Evenepoel, 2011), produciendo disbiosis intestinal.

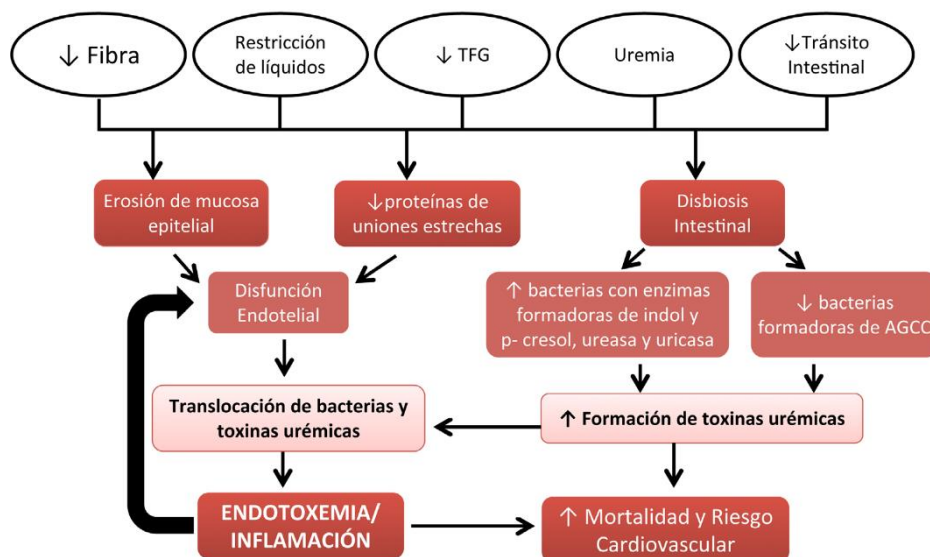


Figura 6. Alteraciones eje riñón-intestino durante la ERC con sus respectivas causas y consecuencias. (Osuna-Padilla & Leal-Escobar, 2017)

Las toxinas urémicas procedentes de la microflora intestinal son: “aminas y poliaminas, producidas por el metabolismo microbiano intestinal”. De especial interés dentro de este grupo encontramos “la trimetilamina N-óxido (TMAO), la cual se genera por el metabolismo intestinal de aminos cuaternarias, como son la colina/fosfatidilcolina, betaína o L-carnitina”, presentes en carnes rojas, hígado, productos lácteos, etc., asociándose con un incremento de enfermedades cardiovasculares (Koeth *et al.*, 2013). La unión amina-proteína es baja, por lo que se elimina mediante diálisis en su acumulación en la ERC (Cigarran Guldris *et al.*, 2017). Por otro lado, haciendo referencia a las poliaminas, nos encontramos “la cadaverina, espemina, espermidina y putrescina que proceden de la descarboxilación de la L-arginina y de L-ornitina o lisina en el intestino”. En estudios se ha comprobado que “estas moléculas interaccionan con la insulina y lipoproteínas, acelerando la aterosclerosis y la hipertrigliceridemia” (Cigarran Guldris *et al.*, 2017). Otras toxinas urémicas, las cuales están unidas a proteínas, son los fenoles e índoles; dentro de los compuestos fenólicos destacan el p-cresol (PCS), el ácido fenilacético y el fenol, sintetizados “en el metabolismo de la fenilalanina o de la tirosina por bacterias anaerobias intestinales” (Jourde-Chiche *et al.*, 2009).

Entre los índoles encontramos el ácido indolacético y el indoxil sulfato (IS), en el cual haremos especial hincapié. Ambos resultan del metabolismo bacteriano del triptófano dietético, aminoácido esencial que se encuentra en alimentos esenciales

como la carne roja, el pescado y el huevo (Zhang & Davies, 2016). Las bacterias intestinales catabolizan el triptófano a indol, compuesto que les confiere supervivencia a dichas bacterias (Kim & Park, 2013). Y posteriormente, en el hígado, el indol se absorbe y se metaboliza a indoxil sulfato (Barreto *et al.*, 2009). Normalmente debido a que más del 96% del IS se encuentra unido a albumina, su excreción se produce a través de los riñones por secreción tubular proximal mediante un sistema de transporte de aniones orgánicos (Enomoto *et al.*, 2002), sin embargo, en pacientes con insuficiencia renal crónica se produce su acumulación siendo citotóxicas (Duranton *et al.*, 2012; Ito & Yoshida, 2014; Meyer & Hostetter, 2012).

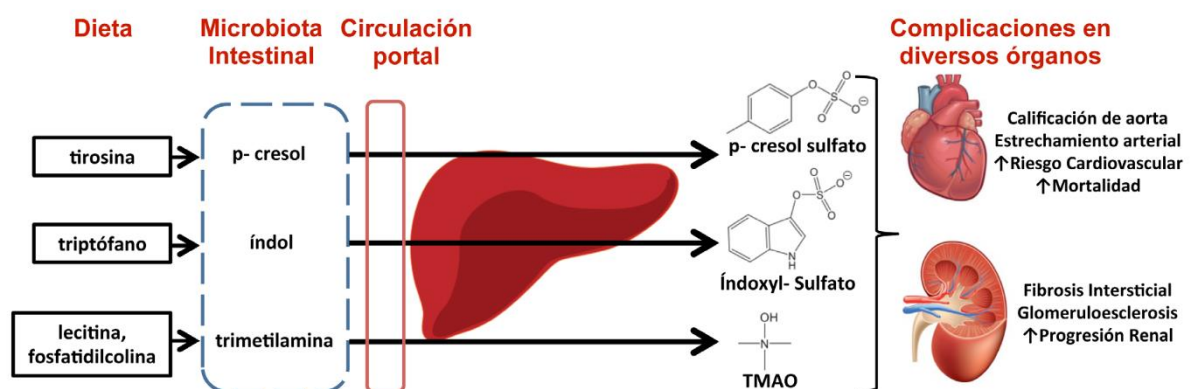


Figura 7. “Producción de toxinas urémicas y sus consecuencias en el organismo”. (Osuna-Padilla & Leal-Escobar, 2017)

La acumulación de toxinas urémicas de origen intestinal causa multitud de consecuencias biológicas y clínicas; una de ellas es la progresión de la ERC, pues “tanto el IS como el PCS intervienen en el desarrollo de fibrosis, en el deterioro renal y en la progresión de la propia enfermedad” (Meijers & Evenepoel, 2011; Mutsaers *et al.*, 2015). Además, se asocian a complicaciones cardiovasculares, pues se ha comprobado que el IS causa “daño endotelial, rigidez arterial y calcificación aortica en la ERC” (Barreto *et al.*, 2009), asimismo favorece la hipertrofia de los miocardiocitos (Lekawanvijit *et al.*, 2010) y es un factor en la fibrilación auricular (Aoki *et al.*, 2015). Por otro lado, el IS al no producir una adecuada producción de eritropoyetina se relaciona con alteraciones anémicas (Chiang *et al.*, 2011; Nangaku *et al.*, 2015), sin embargo, en el caso de las poliaminas estas inhiben directamente la actividad de la eritropoyetina (Yoshida *et al.*, 2006). El IS causa efectos adversos produciendo

alteraciones en el metabolismo óseo ya que “promueven el estrés oxidativo en los osteoblastos” (Nii-Kono *et al.*, 2007).

En resumen, se ha demostrado que el IS aparte de acelerar los efectos negativos en la progresión de la ERC, se asocia a otros efectos perjudiciales como son alteraciones en la función tiroidea y función endotelial (Dou *et al.*, 2004; Dou *et al.*, 2007), causa además “la proliferación de células del musculo liso vascular” (Yamamoto *et al.*, 2006) y la aceleración de la aterosclerosis en hombres (Taki *et al.*, 2007), así como inflamación y fibrosis de varios tejidos y estrés oxidativo en la fibrosis cardiaca (Dou *et al.*, 2007; Vanholder *et al.*, 2005).

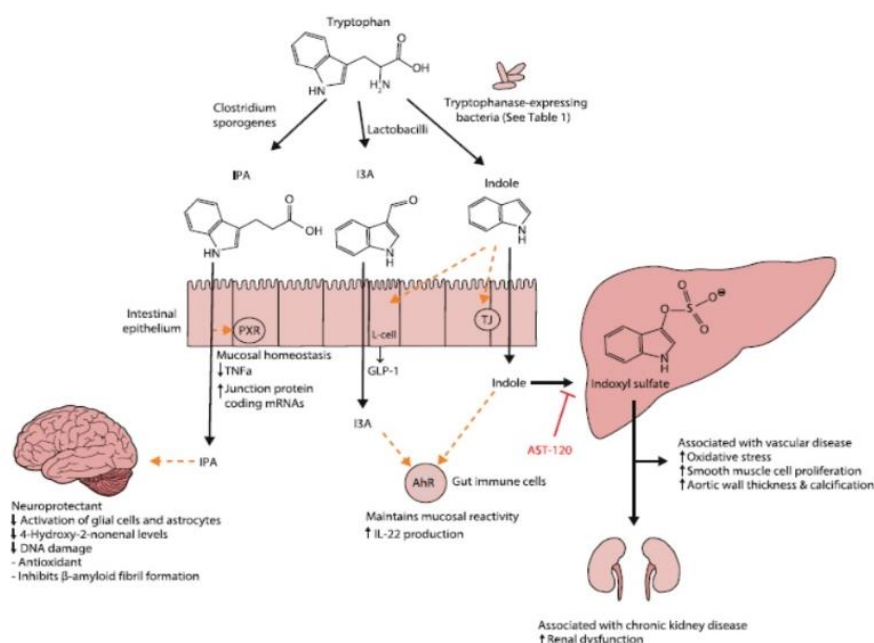


Figura 8. Mecanismos moleculares de la acción del indol y sus metabolitos sobre la fisiología y la enfermedad del huésped. (Zhang & Davies, 2016)

1.4. Implicaciones del consumo de fructosa en la salud

Equivocadamente, el consumo de fructosa fue considerado por mucho tiempo como un “azúcar para diabéticos” debido al bajo índice glucémico del mismo comparado con el de la glucosa, además de no requerir insulina para ser metabolizado (Esquivel-Solís & Gómez-Salas, 2007; Olguin *et al.*, 2015). Por lo que este azúcar fue descrito como un “útil agente terapéutico que estabilizaba la glucosa en sangre en paciente diabéticos, mejorando la sobreproducción de acetona, restaurando el

balance de nitrógeno y disminuyendo la pérdida de agua” (Moorhouse & Kark, 1957). Como consecuencia de esto y de muchas otras consideraciones, se incorporó la fructosa en la elaboración de productos alimenticios, y es en 1960 cuando el jarabe de maíz de alta fructosa (HFCS) se empezó a utilizar como sustituto de otros edulcorantes nutritivos, “representando más del 40% de la totalidad del consumo de estos a nivel mundial” (Bray, 2013; Esquivel-Solís & Gómez-Salas, 2007), siendo la fuente principal de fructosa en alimentos industrializados como postres, helados, bebidas azucaradas, repostería, refrescos gaseosos (Bantle, 2006). Cabe destacar, que los alimentos que contienen fructosa naturalmente como son las frutas, verduras y miel, carecen de una gran ingesta por parte de la población, y por este motivo no forman parte del grupo de alimentos que causan un consumo excesivo de fructosa (Abdelmalek *et al.*, 2012; Malik & Hu, 2012; Riveros *et al.*, 2014).

Gracias al avance de estudios y al conocimiento en profundidad sobre el metabolismo de la fructosa, estas supuestas características positivas de dicha ingesta fueron rechazadas (Delarue *et al.*, 1993). Considerándose hoy en día, la ingesta excesiva de fructosa, “un factor de riesgo en el desarrollo de diversas enfermedades”, en particular, en la población infantil que supone un gran motivo de preocupación en la sanidad tanto nacional como internacional (Olguin *et al.*, 2015). La malnutrición presente en la población, carente de un control en la ingesta de fructosa, ha provocado “un incremento de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT)”, entre las que se encuentra enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidad, disfunción renal, arteriosclerosis, etc. (Choi & Curhan, 2008; De Sousa Rodrigues *et al.*, 2017; Gómez Álvarez *et al.*, 2012; Johnson *et al.*, 2009; Nakagawa *et al.*, 2005; Teff *et al.*, 2009). Coincidiendo a su vez, con el incremento de la adiposidad visceral, alteraciones del perfil lipídico, hiperuricemia, dislipemias, disminución de la sensibilidad a la insulina, alteraciones endocrino-metabólicas, hígado graso no alcohólico, etc. (Bantle, 2009; Collison *et al.*, 2009; Johnson *et al.*, 2007; Johnson *et al.*, 2010; Nakagawa *et al.*, 2006; Rutledge & Adeli, 2007; Stanhope & Havel, 2008; Stanhope & Havel, 2010; Zhang *et al.*, 2013).

Del mismo modo, la fructosa empeora “los síntomas del síndrome del intestino irritable” caracterizado por dolor abdominal y diarrea (Melchior *et al.*, 2014), causando cambios en la microbiota intestinal que puede provocar endotoxemia e inflamación de colon, dañando la barrera intestinal dando lugar a trastornos metabólicos (Do *et al.*, 2018). Por ende, estudios recientes “demostraron que una dieta rica en fructosa en

combinación con una dieta occidental provoca la degradación de la barrera mucosa y la translocación intestinal de endotoxinas, promoviendo la inflamación intestinal e influyendo en el perfil de ácidos grasos de cadena corta (SCFA)” (Bergheim *et al.*, 2008; Kavanagh *et al.*, 2013; Volynets *et al.*, 2017). Destacando otras investigaciones, se informa que “la fructosa dietética induce neuroinflamación y lesión neuronal afectando al aprendizaje espacial y memoria en roedores, además de interrumpir la homeostasis energética del hipocampo” (Agrawal *et al.*, 2016; Hsu *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2016).

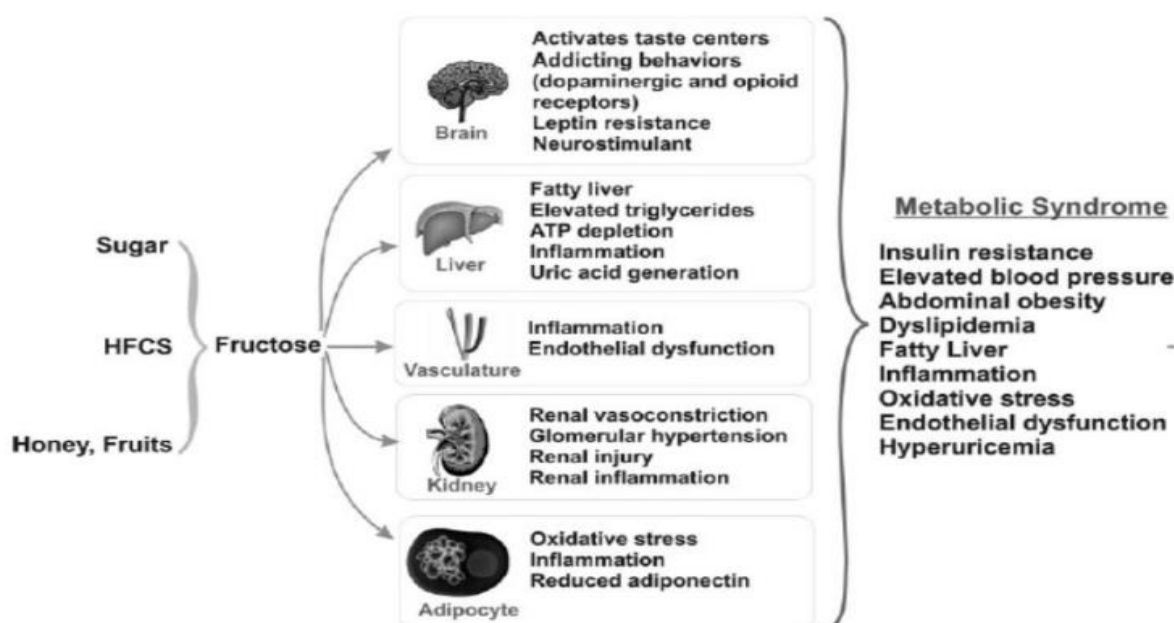


Figura 9. Efectos de la fructosa en el desarrollo de diversos trastornos en la salud. (Johnson *et al.*, 2009)

2. HIPÓTESIS

El desconocimiento y los escasos estudios publicados hoy en día, los cuales han evaluado el consumo de fructosa en relación con la producción de toxinas urémicas, han llevado a estudiar el efecto de la ingesta elevada de fructosa con el posible aumento en los niveles de IS que, además, puede afectar a la función renal.

3. OBJETIVOS

El principal objetivo que ha llevado a la realización de este Trabajo de Fin de Grado es comprender la relación entre los niveles de IS y la ingesta excesiva de fructosa.

Del planteamiento de este objetivo general se llevan a cabo los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar los efectos fisiopatológicos perjudiciales causados por una malnutrición.
- Entender el gran papel que ejerce la microbiota intestinal en nuestra salud.
- Comparar estadísticamente los niveles de IS encontrados en ratas sometidas a una ingesta elevada de fructosa con los niveles encontrados en el grupo control.
- Comprender la relación entre los niveles de IS y los niveles de creatinina en sangre.

4. METODOLOGÍA

Se llevó a cabo la cuantificación de IS en cinco muestras de plasma de ratas sometidas a una ingesta de un 10% de fructosa en agua durante cinco semanas que se compararon con la determinación en ocho muestras de plasma control, todas las muestras se encontraban congeladas a -80°C, conservadas de otros estudios ya realizados en el departamento de Fisiología de la Universidad de Jaén.

Para realizar dicha determinación cuantitativa del IS en las muestras de plasma seguimos, con algunas modificaciones, el protocolo realizado por Al Za'abi *et al.*, 2013, en el que se describe un método rápido y eficaz de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección de fluorescencia para la determinación de IS en las muestras (Za'abi *et al.*, 2013).

Por otra parte, se determinaron los niveles de creatinina en sangre en cinco muestras de plasma de ratas sometidas a una ingesta elevada de fructosa y en ocho muestras grupo control. Esta determinación se realizó mediante por el método de Jaffé con el autoanalizador Spin 120.

4.1. Materiales y reactivos

Para dicho estudio se utilizó todo el material y aparatos disponibles del laboratorio docente del área de Fisiología de la Universidad de Jaén para poder abordar toda la siguiente metodología.

Los reactivos como el IS, el estándar interno (metil parabeno), el acetonitrilo y el metanol (gradiente de HPLC) se obtuvieron de fuentes comerciales, los cuales ya se encontraban disponibles en dicho laboratorio. El reactivo para la determinación de creatinina se adquirió en Spinreact. Además, se utilizó agua pura pasada a través de un sistema Mili- Q para la preparación de todas las soluciones.

4.2. Solución stock y estándar interno

La solución stock se basa en la disolución de una cantidad de IS en metanol (1:100), la cual se dividió en diferentes alícuotas para su posterior utilización conservándose a -80°C y protegidos de la luz.

Por otro lado, la solución del estándar interno se obtuvo mediante la disolución de metil parabeno (1mg) en acetonitrilo (1ml), consiguiendo la solución de precipitación (10ng/ml).

Se utilizaron metanol y acetonitrilo para eliminar sustancias extrañas que pudieran causar interferencias a la hora de realizar la curva patrón y en el procesamiento de las muestras.

4.3. Elaboración de la curva patrón y condiciones cromatográficas

Para establecer un método selectivo se realizó curvas de calibración, la cual presenta una serie de concentraciones de IS (2.5, 5, 10, 15, 20, 30 y 50 μ M). Para ello se disolvió 250 μ l de cada concentración de IS en 900 μ l de acetonitrilo y se generó la curva patrón mediante el análisis de la altura máxima del pico de IS.

Todo el procedimiento para elaborar dicha curva se llevó a cabo mediante HPLC serie 2625 equipada con un inyector automático. La separación cromatográfica se realizó a través de una columna VP-ODS/C8/Phenyl (250 mm de longitud, 4,6 μ m de diámetro interno y 5 μ m de diámetro de partícula) que contiene una fase móvil

compuesta por 10% de tampón de acetato de sodio (pH 4.5, 300 mM) y 90% de acetonitrilo con una velocidad de flujo de 1,3 ml/min y un gradiente isocrático. Por otra parte, la longitud de onda de excitación se estableció a 280nm y la de emisión a 375nm.

4.4. Preparación de las muestras

Las muestras de plasma tanto en el control como en las muestras con una determinada cantidad de fructosa fueron descongeladas a temperatura ambiente para su procesamiento. Para ello se pipetearon 250 µl de plasma en un tubo de polipropileno; y posteriormente se añadieron 900 µl de acetonitrilo. Después, se mezcló todo en un vórtex durante 30s y se centrifugó durante 5 minutos a 10.000 rpm, y así se inyectó una alícuota de 0.2 ml al sistema cromatográfico para su medida.

4.5. Análisis estadísticos

Para determinar si existen diferencias significativas en los valores de IS entre el grupo control y el grupo sometido a una ingesta elevada de fructosa, realizamos una t de Student utilizando Microsoft Excel, además de comparar la media y el error estándar de ambos grupos. Se tomó un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$). Dicha prueba también se llevó a cabo entre el grupo control y el grupo con fructosa en la cuantificación de creatinina.

La correlación entre los valores de indoxil sulfato y creatinina se realizó mediante una regresión lineal utilizando Microsoft Excel.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Determinación del IS

5.1.1. Curva patrón

Al realizar nuestra curva patrón para llevar a cabo un método selectivo y preciso a la hora de calcular las concentraciones de indoxil sulfato en las muestras de plasma, observamos que en dicha curva se produce un pico de saturación a la concentración

de 50 μ M. Por lo que, a diferencia de la curva de calibración realizada por Al Za'abi *et al.*, 2013, nuestra regresión lineal de la curva adaptada a los datos obtenidos en diversas pruebas al determinar la curva patrón tiene como máximo una concentración de 30 μ M.

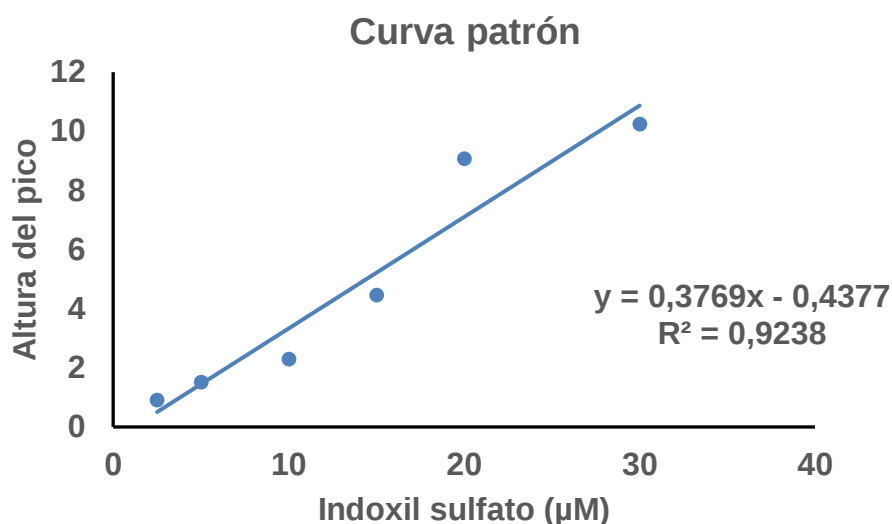


Figura 10. Curva patrón del Indoxil sulfato presentando una serie de concentraciones de IS (2.5, 5, 10, 15, 20 y 30 μ M)

Cabe destacar, que la utilización del estándar interno (disolución de metil parabeno (1mg) en acetonitrilo (1ml)) en la curva de calibración de Al Za'abi *et al.*, 2013 tuvo un tiempo de retención adecuado con respecto a la extracción de IS en las muestras, pues la resolución y cercanía entre sus picos fue correcta para llevar a cabo una determinación cualitativa precisa. Sin embargo, en nuestro caso el pico del estándar interno se colapsó con el de IS, por lo que tras muchas pruebas decidimos obviar su utilización ya que el procesamiento de las muestras no era demasiado complejo.

Por concluir en la elaboración de la curva patrón, otra diferencia con respecto a la metodología realizada por Al Za'abi *et al.*, 2013 y la divergencia con nuestros resultados se debe a la diferencia en el modelo de la columna de HPLC, ya que ellos utilizan OSD-3 C18 Spcherisorb column, pudiendo ser este un factor de las diferencias entre ambos trabajos.

5.1.2. Indoxil sulfato y fructosa

Tras la determinación de IS en las muestras de plasma tanto en el grupo control como en el grupo sometido a una elevada ingesta de fructosa comprobamos que el principal resultado de este estudio es que en el modelo experimental de ingesta elevada de fructosa no existen diferencias significativas ($p < 0,05$) con el aumento en el nivel de indoxil sulfato en sangre, pues en el análisis de la t (*de Student*) obtenemos un valor de 0,582981483, además en la siguiente gráfica se observa claramente que no hay relación entre el nivel de IS en las ratas tratadas con fructosa y en el grupo control.

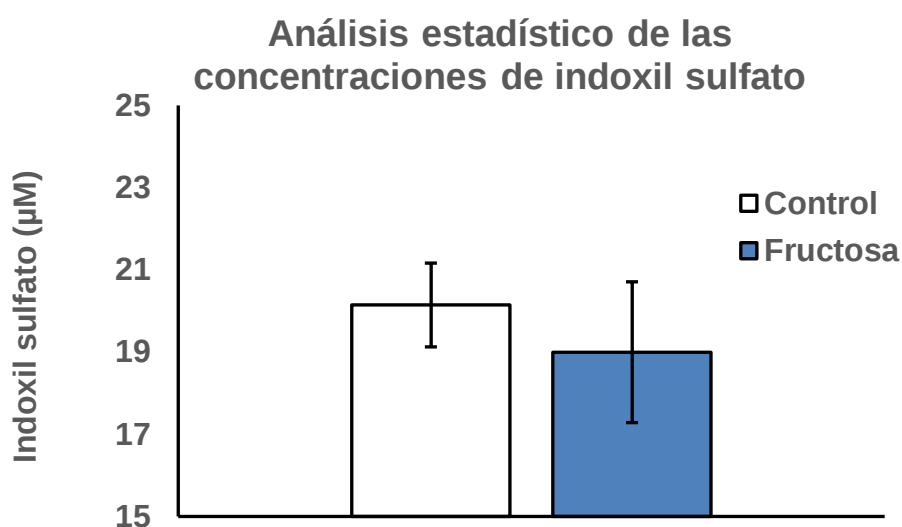


Figura 11. Análisis estadístico de las concentraciones de IS en las muestras control y en las muestras con una elevada ingesta de fructosa.

A pesar de no haber encontrado diferencias significativas en nuestro estudio, y pese a que actualmente hay escasos estudios que relacionen directamente el aumento del nivel de IS por la presencia de una mayor cantidad de fructosa en la dieta, hay cantidad de estudios que afirman que la ingesta elevada de fructosa induce disbiosis en la microbiota intestinal asociándose a alteraciones metabólicas, obesidad e inflamación tanto en ratones (Li *et al.*, 2019) como en humanos (Jones *et al.*, 2019).

Tal como se observa en el estudio de Do y colaboradores, un cambio en la microbiota intestinal manifiesta el desarrollo de la endotoxemia metabólica, inflamación y acumulación de lípidos debido a la permeabilidad intestinal, esto es provocado por una dieta rica en fructosa en ratones conduciendo a estos a una enfermedad hepática, esteatosis y obesidad (Do *et al.*, 2018), toda esta investigación

puede ser un papel clave en el desarrollo de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) (Bergheim *et al.*, 2008). Estos hechos son reforzados, además, en otro experimento en este caso realizado con monos, llevado a cabo por Kavanagh y colaboradores, en el que se dedujo que dicha dieta induce cambios hepáticos que son secundarios a un aumento de endotoxemia, sin embargo, estos cambios no se observaron al tener un control en la ingesta calórica (Kavanagh *et al.*, 2013).

Por otro lado, Carles *et al.*, explicaron que a pesar de que la dosis de fructosa y glucosa se encuentra en cantidad semejantes en el torrente sanguíneo, estos azúcares presentan distintos efectos sobre el aumento de grasa corporal. Esta diferencia podría deberse a que la fructosa en el jarabe de maíz de alta fructosa (JMAF) se metaboliza en pasos anteriores al de la sacarosa y podría resultar de la degradación no regulada de moléculas de carbono, las cuales la microbiota intestinal transforma en ácidos grasos. Esta conclusión se basó en los resultados de su experimento en los cuales las ratas con acceso a JMAF presentaban niveles altos de triacilglicéridos y ganaron significativamente de peso teniendo una mayor grasa abdominal (Jones *et al.*, 2009). Al contrario, de lo que se observó en el estudio de Olguin y colaboradores, en el que no existió diferencias significativas en cuanto al peso corporal en los animales, por lo que tampoco hubo un aumento de glucemia, aunque a pesar de sus resultados, expone que la hipertriacilglicerolemia es un efecto común y el más perjudicial a la hora de tener una dieta rica en fructosa, y propone la hipótesis de que la “presencia de fructosa podría estimular la síntesis hepática de apoB provocando la formación de VLDL, siendo la responsable de la liberación de TAG al plasma” (Olguin *et al.*, 2015).

Adicionalmente a las alteraciones nombradas con anterioridad, Hsu y colaboradores, demostraron que azúcares agregados (HFCS) en el consumo habitual durante la pubertad en ratas deteriora la capacidad normal de aprendizaje y memoria (Hsu *et al.*, 2015). Sus hallazgos fueron corroborados en el estudio realizado por Li y colaboradores, los cuales afirmaron que la dieta elevada de fructosa supone efectos alarmantes de neurodegeneración en el hipocampo en edades tempranas, asociándose a un factor de riesgo en enfermedades neurodegenerativas (Li *et al.*, 2019).

Asimismo, gracias a diversos estudios se conoce que los cambios en la microbiota intestinal tras alguna alteración, en nuestro caso: el consumo excesivo de fructosa, puede suponer un efecto perjudicial para la salud del huésped, ya que se

acentúa el crecimiento de filos bacterianos capaces de “sintetizar urea, ácido úrico y compuestos como fenoles e índoles, los cuales atraviesan la barrera intestinal debido a la disfuncionalidad de la misma” (Kotanko *et al.*, 2006). Pues, una característica única de la fructosa, es la capacidad de incrementar la concentración de ácido úrico, este hecho se ha comprobado en estudios en humanos (Stirpe *et al.*, 1970) y en roedores (Stavric *et al.*, 1976). Y aunque se consideró que el ácido úrico era “biológicamente inerte y un importante antioxidante en plasma” (Johnson *et al.*, 2007), diversos experimentos han estudiado los efectos nocivos del ácido úrico en la salud tras la ingesta de fructosa en la dieta: obesidad, hiperinsulinemia y enfermedad renal (Iseki *et al.*, 2001; Mellen *et al.*, 2006). Además, Nakawa y colaboradores, sometieron a una dieta de un 60% de fructosa a ratas durante cuatro semanas, observando en ellas un gran aumento en la concentración de los niveles de ácido úrico, un incremento de grasa corporal y de presión arterial sistólica, asociándose estos resultados a características de alteraciones metabólicas y de hiperuricemia (Nakagawa *et al.*, 2006).

Finalmente, en términos urémicos, estudios llevados a cabo por Bray en diferentes años, afirman que el IS conduce a la disfunción endotelial por la reducción de la producción de óxido nítrico y esto provoca un aumento en el estrés oxidativo (Bray *et al.*, 2004; Bray, 2013).

Como consecuencia a toda información descrita anteriormente, nuestro objetivo era comprobar que la ingesta elevada de fructosa induce un aumento de IS produciendo efectos nocivos en la salud como ocurre en el caso del ácido úrico, y a pesar de no obtener ninguna diferencia significativa en nuestro caso, pudiendo ser debida a otros factores no controlados en la medida de las muestras, estudiamos la relación de la fructosa con los niveles de creatinina en plasma.

5.2. Determinación de Creatinina

5.2.1. Creatinina y fructosa

Después de comprobar en estudios previos realizados en el laboratorio del departamento de Fisiología de la Universidad de Jaén que existe una elevación de creatinina en sangre en ratas tratadas con fructosa produciendo disfunción renal, quisimos medir en nuestras muestras este parámetro para así comprobar, más adelante, su correlación con el IS. En cambio, a lo hallado en otros estudios, la creatinina en plasma de las ratas que se trataron con fructosa en nuestro experimento,

no estaba significativamente aumentada con respecto a las ratas control, pues el análisis de la t (de Student) nos dio un valor de 0,14012667.

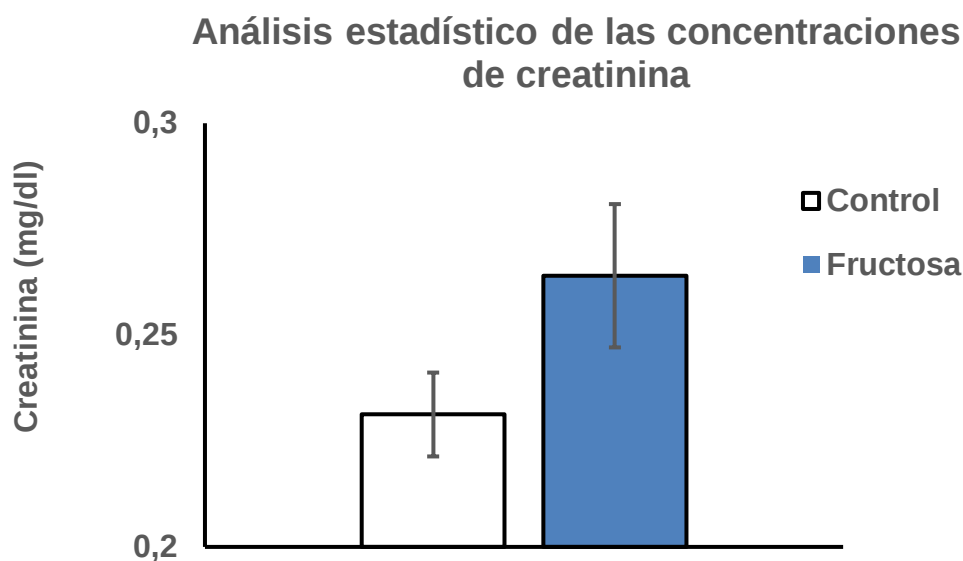


Figura 12. Análisis estadístico de las concentraciones de creatinina en las muestras control y en las muestras con una elevada ingesta de fructosa.

La disfunción renal produce elevación de creatinina en sangre, disminución en el aclaramiento de creatinina y aumento en la actividad enzimática urinaria de marcadores de lesión tubular causando a su vez alteraciones histopatológicas en riñón, hígado, bazo y páncreas. Pero no solo experimentos realizados en la Universidad de Jaén nos acercan a conocer todas estas alteraciones al tener una ingesta elevada de fructosa, si no que estudios como el de Johnson *et al.*, 2010, demuestran que una dosis del 60% de fructosa en la dieta incentiva la presencia de proteinuria, causando disfunción renal y acelerando la glomeruloesclerosis en riñón, patologías que no aparecen al sustituir la fructosa por glucosa (Gersch *et al.*, 2007).

En un estudio realizado por Rukavina Mikusic y colaboradores, se observó que la sobrecarga de fructosa en los riñones se relacionó con incremento significativo de diuresis, además de una reducción en la excreción de sodio. Sin embargo, en el aclaramiento de creatinina no hubo diferencias significativas en la duración experimental, pero si se manifestó en la semana 12 de ingesta con fructosa la presencia de microalbuminuria. En este experimento también se observó la relación de presentar disfunción renal con otros desordenes metabólicos pues las ratas alimentadas con una dieta rica en fructosa presentaron hiperinsulinemia e incremento

de presión, este último asociado a la disminución de excreción urinaria del sodio (Rukavina Mikusic *et al.*, 2018).

5.3. Correlación IS-Creatinina

Es de lógica pensar que, si no ha habido diferencias significativas entre los niveles de IS y la ingesta de fructosa, y tampoco entre los niveles de creatinina y dicha ingesta, la correlación entre el indoxil sulfato y creatinina fuese nula. Al realizar la regresión lineal entre ambos confirmamos que efectivamente no existe una relación directa entre los niveles IS y de creatinina, pues el coeficiente de determinación (R^2) se aleja mucho de su valor óptimo.

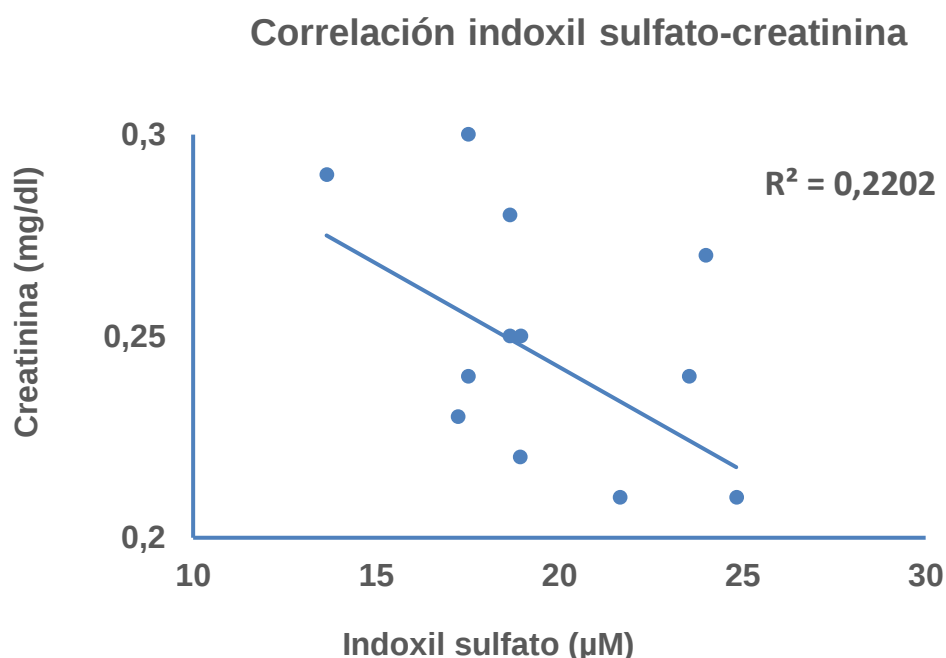


Figura 13. Análisis de la regresión lineal y la correlación entre los niveles de indoxil sulfato y creatinina.

A pesar de nuestros resultados, dicha correlación si se observa en el caso de la enfermedad renal crónica (ERC), la cual se ha asociado a la alteración de la barrera intestinal y de la microbiota intestinal, provocando una disfunción renal y toxicidad urémica (Osuna-Padilla & Leal-Escobar, 2017). En tal sentido, Wu *et al.*, establecieron la relación entre los niveles de IS y la progresión renal en pacientes en diferentes etapas de ERC encontrándose diferencias significativas (Wu *et al.*, 2011). De la misma manera, Barreto y colaboradores, demostraron que niveles altos de IS se asocian significativamente a enfermedades vasculares renales (Barreto *et al.*, 2009).

Concluyendo con todos nuestros resultados, es posible que no existan ni diferencias significativas ni correlación entre los grupos y medidas de los diferentes parámetros a causa de que la dieta que toman los roedores es una dieta estándar pudiendo no producir ninguna modificación en la microbiota y no verse alterados los niveles de IS y de creatinina. También podrían verse no afectados debido a que nuestro estudio está limitado por un número pequeño de muestras, pues solo analizamos cinco muestras de ratas sometidas a una dieta rica en fructosa.

6. CONCLUSIÓN

Hasta la actualidad no se había considerado el gran peligro que tiene la presencia de fructosa en nuestra dieta. Cada vez hay más cantidad de alimentos ultra procesados y más de la mitad de la población añaden a sus cestas diariamente alimentos con azúcares añadidos.

A pesar de que en nuestro experimento no haya habido diferencias significativas en los niveles de IS y de creatinina en niveles altos de fructosa, es importante comprender el gran vínculo que tenemos con nuestra microbiota, pues no “solo somos lo que comemos sino somos todo el conjunto de microorganismos que habita en nosotros”, y es de nuestra responsabilidad cuidarlo.

Además, gracias al avance y al conocimiento del papel de nuestra microbiota intestinal, nos proporcionan las herramientas necesarias para desarrollar estrategias terapéuticas destinadas a mejorar la calidad de vida. Añadiendo una comida saludable evitando en todo lo posible alimentos con aditivos y, sobre todo no teniendo una vida sedentaria.

7. BIBLIOGRAFÍA

Abdelmalek, M. F., Lazo, M., Horska, A., Bonekamp, S., Lipkin, E. W., Balasubramanyam, A., Bantle, J. P., Johnson, R. J., Diehl, A. M., Clark, J. M., & Fatty Liver Subgroup of Look AHEAD Research Group (2012). Higher dietary fructose is associated with impaired hepatic adenosine triphosphate homeostasis in obese individuals with type 2 diabetes. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 56(3), 952–960. <https://doi.org/10.1002/hep.25741>

Agrawal, R., Noble, E., Vergnes, L., Ying, Z., Reue, K., & Gomez-Pinilla, F. (2016). Dietary fructose aggravates the pathobiology of traumatic brain injury by influencing energy homeostasis and plasticity. *Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 36(5), 941–953. <https://doi.org/10.1177/0271678X15606719>

Al Za'abi, M., Ali, B., & Al Toubi, M. (2013). HPLC-fluorescence method for measurement of the uremic toxin indoxyl sulfate in plasma. *Journal of chromatographic science*, 51(1), 40–43. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms103>

Albenberg, L. G., Lewis, J. D., & Wu, G. D. (2012). Food and the gut microbiota in inflammatory bowel diseases: a critical connection. *Current opinion in gastroenterology*, 28(4), 314–320. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e328354586f>

Álvarez-Calatayud, G., Guarner, F., Requena, T., & Marcos, A. (2018). Dieta y microbiota. Impacto en la salud. *Nutrición Hospitalaria*. 35(Nº Extra 6): 11-15. <http://dx.doi.org/10.20960/nh.2280>

Aoki, K., Teshima, Y., Kondo, H., Saito, S., Fukui, A., Fukunaga, N., Nawata, T., Shimada, T., Takahashi, N., & Shibata, H. (2015). Role of Indoxyl Sulfate as a Predisposing Factor for Atrial Fibrillation in Renal Dysfunction. *Journal of the American Heart Association*, 4(10), e002023. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002023>

Arslan N. (2014). Obesity, fatty liver disease and intestinal microbiota. *World journal of gastroenterology*, 20(44), 16452–16463. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i44.16452>

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J. M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., ... Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174–180. <https://doi.org/10.1038/nature09944>

Bantle J. P. (2006). Is fructose the optimal low glycemic index sweetener?. *Nestle Nutrition workshop series. Clinical & performance programme*, 11, 83–95. <https://doi.org/10.1159/000094427>

Bantle J. P. (2009). Dietary fructose and metabolic syndrome and diabetes. *The Journal of nutrition*, 139(6), 1263S–1268S. <https://doi.org/10.3945/jn.108.098020>

Baquero, F., & Nombela, C. (2012). The microbiome as a human organ. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(SUPPL.4), 2-4. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03916.x>

Barreto, F. C., Barreto, D. V., Liabeuf, S., Meert, N., Glorieux, G., Temmar, M., Choukroun, G., Vanholder, R., Massy, Z. A., & European Uremic Toxin Work Group (EUTox) (2009). Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, 4(10), 1551–1558. <https://doi.org/10.2215/CJN.03980609>

Bergheim, I., Weber, S., Vos, M., Krämer, S., Volynets, V., Kaserouni, S., McClain, C. J., & Bischoff, S. C. (2008). Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *Journal of hepatology*, 48(6), 983–992. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2008.01.035>

Blaut, M., & Clavel, T. (2007). Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *The Journal of nutrition*, 137(3 Suppl 2), 751S–5S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.751S>

Boulangé, C. L., Neves, A. L., Chilloux, J., Nicholson, J. K., & Dumas, M. E. (2016). Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome medicine*, 8(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0303-2>

Bray G. A. (2013). Energy and fructose from beverages sweetened with sugar or high-fructose corn syrup pose a health risk for some people. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 4(2), 220–225. <https://doi.org/10.3945/an.112.002816>

Bray, G. A., Nielsen, S. J., & Popkin, B. M. (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *The American journal of clinical nutrition*, 79(4), 537–543. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.4.537>

Bull, M. J., & Plummer, N. T. (2014). Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integrative medicine (Encinitas, Calif.)*, 13(6), 17–22.

Caesar, R., Tremaroli, V., Kovatcheva-Datchary, P., Cani, P. D., & Bäckhed, F. (2015). Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. *Cell metabolism*, 22(4), 658–668. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.026>

Carlucci, C., Petrof, E. O., & Allen-Vercoe, E. (2016). Fecal Microbiota-based Therapeutics for Recurrent Clostridium difficile Infection, Ulcerative Colitis and Obesity. *EBioMedicine*, 13, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.09.029>

Chan, Y. K., Estaki, M., & Gibson, D. L. (2013). Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. *Annals of nutrition & metabolism*, 63 Suppl 2, 28–40. <https://doi.org/10.1159/000354902>

Chiang, C. K., Tanaka, T., Inagi, R., Fujita, T., & Nangaku, M. (2011). Indoxyl sulfate, a representative uremic toxin, suppresses erythropoietin production in a HIF-dependent manner. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 91(11), 1564–1571. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2011.114>

Choi, H. K., & Curhan, G. (2008). Soft drinks, fructose consumption, and the risk of gout in men: Prospective cohort study. *Bmj*, 336(7639), 309–312. <https://doi.org/10.1136/bmj.39449.819271.BE>

Cigarran Guldris, S., González Parra, E., & Cases Amenós, A. (2017). Microbiota intestinal en la enfermedad renal crónica. *Nefrologia: publicacion oficial de la Sociedad Espanola Nefrologia*, 37(1), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2016.05.008>

Claesson, M. J., Jeffery, I. B., Conde, S., Power, S. E., O'Connor, E. M., Cusack, S., Harris, H. M., Coakley, M., Lakshminarayanan, B., O'Sullivan, O., Fitzgerald, G. F., Deane, J., O'Connor, M., Harnedy, N., O'Connor, K., O'Mahony, D., van Sinderen, D., Wallace, M., Brennan, L., Stanton, C., ... O'Toole, P. W. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 488(7410), 178–184. <https://doi.org/10.1038/nature11319>

Collison, K. S., Saleh, S. M., Bakheet, R. H., Al-Rabiah, R. K., Inglis, A. L., Makhoul, N. J., Maqbool, Z. M., Zaidi, M. Z., Al-Johi, M. A., & Al-Mohanna, F. A. (2009). Diabetes of the liver: the link between nonalcoholic fatty liver disease and HFCS-55. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 17(11), 2003–2013. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.58>

David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., & Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559–563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>

De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(33), 14691–14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>

de Sousa Rodrigues, M. E., Bekhbat, M., Houser, M. C., Chang, J., Walker, D. I., Jones, D. P., Oller do Nascimento, C., Barnum, C. J., & Tansey, M. G. (2017). Chronic psychological stress and high-fat high-fructose diet disrupt metabolic and inflammatory gene networks in the brain, liver, and gut and promote behavioral deficits in

mice. *Brain, behavior, and immunity*, 59, 158–172.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.08.021>

Delarue, J., Normand, S., Pachiaudi, C., Beylot, M., Lamisse, F., & Riou, J. P. (1993). The contribution of naturally labelled ¹³C fructose to glucose appearance in humans. *Diabetologia*, 36(4), 338–345. <https://doi.org/10.1007/BF00400238>

Devkota, S., Wang, Y., Musch, M. W., Leone, V., Fehlner-Peach, H., Nadimpalli, A., Antonopoulos, D. A., Jabri, B., & Chang, E. B. (2012). Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in IL10^{-/-} mice. *Nature*, 487(7405), 104–108. <https://doi.org/10.1038/nature11225>

DeVoss, J., & Diehl, L. (2014). Murine models of inflammatory bowel disease (IBD): challenges of modeling human disease. *Toxicologic pathology*, 42(1), 99–110. <https://doi.org/10.1177/0192623313509729>

Dhondt, A., Vanholder, R., Van Biesen, W., & Lameire, N. (2000). The removal of uremic toxins. *Kidney International, Supplement*, 58(76).
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.07606.x>

Diaz Heijtz, R., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M. L., Forssberg, H., & Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(7), 3047–3052.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108>

DiGiulio D. B. (2012). Diversity of microbes in amniotic fluid. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, 17(1), 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2011.10.001>

Do, M. H., Lee, E., Oh, M. J., Kim, Y., & Park, H. Y. (2018). High-Glucose or -Fructose Diet Cause Changes of the Gut Microbiota and Metabolic Disorders in Mice without Body Weight Change. *Nutrients*, 10(6), 761. <https://doi.org/10.3390/nu10060761>

Dominguez-Bello, M. G., Blaser, M. J., Ley, R. E., & Knight, R. (2011). Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing. *Gastroenterology*, 140(6), 1713–1719.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.02.011>

Dou, L., Bertrand, E., Cerini, C., Faure, V., Sampol, J., Vanholder, R., Berland, Y., & Brunet, P. (2004). The uremic solutes p-cresol and indoxyl sulfate inhibit endothelial proliferation and wound repair. *Kidney international*, 65(2), 442–451.
<https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00399.x>

Dou, L., Jourde-Chiche, N., Faure, V., Cerini, C., Berland, Y., Dignat-George, F., & Brunet, P. (2007). The uremic solute indoxyl sulfate induces oxidative stress in endothelial cells. *Journal of thrombosis and haemostasis: JTH*, 5(6), 1302–1308. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02540.x>

Duranton, F., Cohen, G., De Smet, R., Rodriguez, M., Jankowski, J., Vanholder, R., Argiles, A., & European Uremic Toxin Work Group (2012). Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 23(7), 1258–1270. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011121175>

Enomoto, A., Takeda, M., Tojo, A., Sekine, T., Cha, S. H., Khamdang, S., Takayama, F., Aoyama, I., Nakamura, S., Endou, H., & Niwa, T. (2002). Role of organic anion transporters in the tubular transport of indoxyl sulfate and the induction of its nephrotoxicity. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 13(7), 1711–1720. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000022017.96399.b2>

Esquivel-Solís, V., & Gómez-Salas, G. (2007). Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa. *Acta Méd. Costarric*, 49(4), 198–202.

Evenepoel, P., Meijers, B. K., Bammens, B. R., & Verbeke, K. (2009). Uremic toxins originating from colonic microbial metabolism. *Kidney international. Supplement*, (114), S12–S19. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.402>

García, M. J. L., Povedano, M. C., & Molina, A. O. (2012). *Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales*. <https://doi.org/10.3926/oss.3>

Gersch, M. S., Mu, W., Cirillo, P., Reungjui, S., Zhang, L., Roncal, C., Sautin, Y. Y., Johnson, R. J., & Nakagawa, T. (2007). Fructose, but not dextrose, accelerates the progression of chronic kidney disease. *American journal of physiology. Renal physiology*, 293(4), F1256–F1261. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00181.2007>

Gómez Álvarez, A. M., Cardellá Rosales, L., Pita Rodríguez, G., & Fernández, M. H. (2012). Consumo elevado de fructosa y su posible influencia sobre el metabolismo lipídico. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 22(2), 287-300. <http://www.revalnutricion.sld.cu/index.php/rcan/article/view/464>

Goulet, O. (2015). Potential role of the intestinal microbiota in programming health and disease. *Nutrition Reviews*, 73, 32–40. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv039>

Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., ... & Fedorak, R. (2011). Probióticos y prebióticos. *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos*, 1, 1-29.

Hammer H. F. (2011). Gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*, 29(6), 550–553. <https://doi.org/10.1159/000332981>

Hentges, D. J., Maier, B. R., Burton, G. C., Flynn, M. A., & Tsutakawa, R. K. (1977). Effect of a high-beef diet on the fecal bacterial flora of humans. *Cancer research*, 37(2), 568-571.

Hsu, T. M., Konanur, V. R., Taing, L., Usui, R., Kayser, B. D., Goran, M. I., & Kanoski, S. E. (2015). Effects of sucrose and high fructose corn syrup consumption on spatial memory function and hippocampal neuroinflammation in adolescent rats. *Hippocampus*, 25(2), 227–239. <https://doi.org/10.1002/hipo.22368>

Icaza-Chávez, M. E. (2013). Gut microbiota in health and disease. *Revista de Gastroenterología de México*, 78(4), 240-248. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2013.04.004>

Innis, S. M., & Jacobson, K. (2007). Dietary lipids in early development and intestinal inflammatory disease. *Nutrition reviews*, 65(12 Pt 2), S188–S193. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00361.x>

Iseki, K., Oshiro, S., Tozawa, M., Iseki, C., Ikemiya, Y., & Takishita, S. (2001). Significance of hyperuricemia on the early detection of renal failure in a cohort of screened subjects. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*, 24(6), 691–697. <https://doi.org/10.1291/hypres.24.691>

Ito, S., & Yoshida, M. (2014). Protein-bound uremic toxins: new culprits of cardiovascular events in chronic kidney disease patients. *Toxins*, 6(2), 665–678. <https://doi.org/10.3390/toxins6020665>

Johnson, R. J., Perez-Pozo, S. E., Sautin, Y. Y., Manitius, J., Sanchez-Lozada, L. G., Feig, D. I., Shafiu, M., Segal, M., Glasscock, R. J., Shimada, M., Roncal, C., & Nakagawa, T. (2009). Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes?. *Endocrine reviews*, 30(1), 96–116. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0033>

Johnson, R. J., Sanchez-Lozada, L. G., & Nakagawa, T. (2010). The effect of fructose on renal biology and disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 21(12), 2036–2039. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010050506>

Johnson, R. J., Segal, M. S., Sautin, Y., Nakagawa, T., Feig, D. I., Kang, D. H., Gersch, M. S., Benner, S., & Sánchez-Lozada, L. G. (2007). Potential role of sugar (fructose) in the epidemic of hypertension, obesity and the metabolic syndrome, diabetes, kidney

disease, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*, 86(4), 899–906. <https://doi.org/10.1093/ajcn/86.4.899>

Jones, R. B., Alderete, T. L., Kim, J. S., Millstein, J., Gilliland, F. D., & Goran, M. I. (2019). High intake of dietary fructose in overweight/obese teenagers associated with depletion of *Eubacterium* and *Streptococcus* in gut microbiome. *Gut microbes*, 10(6), 712–719. <https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1592420>

Jourde-Chiche, N., Dou, L., Cerini, C., Dignat-George, F., Vanholder, R., & Brunet, P. (2009). Protein-bound toxins - Update 2009. *Seminars in Dialysis*, 22(4), 334–339. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2009.00576.x>

Kavanagh, K., Wylie, A. T., Tucker, K. L., Hamp, T. J., Gharaibeh, R. Z., Fodor, A. A., & Cullen, J. M. (2013). Dietary fructose induces endotoxemia and hepatic injury in calorically controlled primates. *The American journal of clinical nutrition*, 98(2), 349–357. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.057331>

Khan, M. J., Gerasimidis, K., Edwards, C. A., & Shaikh, M. G. (2016). Role of Gut Microbiota in the Aetiology of Obesity: Proposed Mechanisms and Review of the Literature. *Journal of obesity*, 2016, 7353642. <https://doi.org/10.1155/2016/7353642>

Kim, J., & Park, W. (2013). Indole inhibits bacterial quorum sensing signal transmission by interfering with quorum sensing regulator folding. *Microbiology (Reading, England)*, 159(Pt 12), 2616–2625. <https://doi.org/10.1099/mic.0.070615-0>

Knights, D., Lassen, K. G., & Xavier, R. J. (2013). Advances in inflammatory bowel disease pathogenesis: linking host genetics and the microbiome. *Gut*, 62(10), 1505–1510. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303954>

Koeth, R. A., Wang, Z., Levison, B. S., Buffa, J. A., Org, E., Sheehy, B. T., Britt, E. B., Fu, X., Wu, Y., Li, L., Smith, J. D., DiDonato, J. A., Chen, J., Li, H., Wu, G. D., Lewis, J. D., Warrier, M., Brown, J. M., Krauss, R. M., Tang, W. H., ... Hazen, S. L. (2013). Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nature medicine*, 19(5), 576–585. <https://doi.org/10.1038/nm.3145>

Kotanko, P., Carter, M., & Levin, N. W. (2006). Intestinal bacterial microflora - A potential source of chronic inflammation in patients with chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(8), 2057–2060. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfl281>

Lau, E., Carvalho, D., Pina-Vaz, C., Barbosa, J. A., & Freitas, P. (2015). Beyond gut microbiota: understanding obesity and type 2 diabetes. *Hormones (Athens, Greece)*, 14(3), 358–369. <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1571>

- Lekawanvijit, S., Adrahtas, A., Kelly, D. J., Kompa, A. R., Wang, B. H., & Krum, H. (2010). Does indoxyl sulfate, a uraemic toxin, have direct effects on cardiac fibroblasts and myocytes?. *European heart journal*, 31(14), 1771–1779. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehp574>
- Li, J. M., Yu, R., Zhang, L. P., Wen, S. Y., Wang, S. J., Zhang, X. Y., ... & Kong, L. D. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: a benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*, 7(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0713-7>
- Malik, V. S., & Hu, F. B. (2012). Sweeteners and Risk of Obesity and Type 2 Diabetes: The Role of Sugar-Sweetened Beverages. *Current diabetes reports*, Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s11892-012-0259-6>
- Martín, A. B. (2017). *Microbiota intestinal y diabetes*. Tesis doctoral. Universidad complutense.
- McPhee, J. B., & Schertzer, J. D. (2015). Immunometabolism of obesity and diabetes: microbiota link compartmentalized immunity in the gut to metabolic tissue inflammation. *Clinical science (London, England : 1979)*, 129(12), 1083–1096. <https://doi.org/10.1042/CS20150431>
- Meijers, B. K., & Evenepoel, P. (2011). The gut-kidney axis: indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 26(3), 759–761. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq818>
- Melchior, C., Gourcerol, G., Déchelotte, P., Leroi, A. M., & Ducrotté, P. (2014). Symptomatic fructose malabsorption in irritable bowel syndrome: A prospective study. *United European gastroenterology journal*, 2(2), 131–137. <https://doi.org/10.1177/2050640614521124>
- Mellen, P. B., Bleyer, A. J., Erlinger, T. P., Evans, G. W., Nieto, F. J., Wagenknecht, L. E., Wofford, M. R., & Herrington, D. M. (2006). Serum uric acid predicts incident hypertension in a biethnic cohort: the atherosclerosis risk in communities study. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 48(6), 1037–1042. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000249768.26560.66>
- Meyer, T. W., & Hostetter, T. H. (2012). Uremic solutes from colon microbes. *Kidney international*, 81(10), 949–954. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.504>
- Moorhouse, J. A., & KARK, R. M. (1957). Fructose and diabetes. *The American journal of medicine*, 23(1), 46–58. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(57\)90357-1](https://doi.org/10.1016/0002-9343(57)90357-1)

Mutsaers, H. A., Stribos, E. G., Glorieux, G., Vanholder, R., & Olinga, P. (2015). Chronic Kidney Disease and Fibrosis: The Role of Uremic Retention Solutes. *Frontiers in medicine*, 2, 60. <https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00060>

Nagao-Kitamoto, H., Kitamoto, S., Kuffa, P., & Kamada, N. (2016). Pathogenic role of the gut microbiota in gastrointestinal diseases. *Intestinal research*, 14(2), 127–138. <https://doi.org/10.5217/ir.2016.14.2.127>

Nakagawa, T., Hu, H., Zharikov, S., Tuttle, K. R., Short, R. A., Glushakova, O., Ouyang, X., Feig, D. I., Block, E. R., Herrera-Acosta, J., Patel, J. M., & Johnson, R. J. (2006). A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *American journal of physiology. Renal physiology*, 290(3), F625–F631. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00140.2005>

Nakagawa, T., Tuttle, K. R., Short, R. A., & Johnson, R. J. (2005). Hypothesis: fructose-induced hyperuricemia as a causal mechanism for the epidemic of the metabolic syndrome. *Nature clinical practice. Nephrology*, 1(2), 80–86. <https://doi.org/10.1038/ncpneph0019>

Nangaku, M., Mimura, I., Yamaguchi, J., Higashijima, Y., Wada, T., & Tanaka, T. (2015). Role of uremic toxins in erythropoiesis-stimulating agent resistance in chronic kidney disease and dialysis patients. *Journal of Renal Nutrition*, 25(2), 160-163. <https://doi.org/10.1053/j.jrn.2014.10.011>

Neuman, M. G., & Nanau, R. M. (2012). Inflammatory bowel disease: role of diet, microbiota, life style. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*, 160(1), 29–44. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2011.09.001>

Nii-Kono, T., Iwasaki, Y., Uchida, M., Fujieda, A., Hosokawa, A., Motojima, M., Yamato, H., Kurokawa, K., & Fukagawa, M. (2007). Indoxyl sulfate induces skeletal resistance to parathyroid hormone in cultured osteoblastic cells. *Kidney international*, 71(8), 738–743. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002097>

Oh, D. Y., Talukdar, S., Bae, E. J., Imamura, T., Morinaga, H., Fan, W., Li, P., Lu, W. J., Watkins, S. M., & Olefsky, J. M. (2010). GPR120 is an omega-3 fatty acid receptor mediating potent anti-inflammatory and insulin-sensitizing effects. *Cell*, 142(5), 687–698. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.07.041>

Olguin B., M. C., Posadas R., M. D., Revelant Z., G. C., Labourdette P., V., Marinozzi T., D. O., Venezia N., M. R., & Zingale V., M. I. (2015). Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas.

Revista Chilena de Nutricion, 42(2), 151–156. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200006>

Olveira Fuster, G., & González-Molero, I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutricion Hospitalaria*, 22(SUPPL. 2), 26–34.

Osuna-Padilla, I. A., & Leal-Escobar, G. (2017). Alteraciones en el eje intestino-riñón durante la enfermedad renal crónica: causas, consecuencias y propuestas de tratamiento. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 21(2), 174-183. <https://doi.org/10.14306/renhyd.21.2.244>

Patterson, E., Cryan, J. F., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P., Dinan, T. G., & Stanton, C. (2014). Gut microbiota, the pharmabiotics they produce and host health. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 73(4), 477–489. <https://doi.org/10.1017/S0029665114001426>

Petrosino, J. F., Highlander, S., Luna, R. A., Gibbs, R. A., & Versalovic, J. (2009). Metagenomic pyrosequencing and microbial identification. *Clinical chemistry*, 55(5), 856–866. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.107565>

Riveros, M. J., Parada, A., & Pettinelli, P. (2014). Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud: malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Nutrición Hospitalaria*, 29(3), 491-499. <https://doi.org/10.3305/NH.2014.29.3.7178>

Rukavina Mikusic, N. L., Kouyoumdzian, N. M., Del Mauro, J. S., Gironacci, M. M., Puyó, A. M., Toblli, J. E., Fernández, B. E., & Choi, M. R. (2018). Alteration of renal natriuretic systems is associated with the development of hypertension and precedes the presence of renal damage in a model of metabolic syndrome. *Revista Argentina de Cardiología*, 86(1), 6–12. <https://doi.org/10.7775/rac.v86.i1.11331>

Ruiz, A. V., Puig, Y., & Rodríguez, M. (2010). Intestinal microbiota, immune system and obesity. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 29(3), 364-397. <https://doi.org/10.3305/NH.2014.29.3.7178>

Rutledge, A. C., & Adeli, K. (2007). Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutrition reviews*, 65(6 Pt 2), S13–S23. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00322.x>

Sánchez, E., Donat, E., Ribes-Koninckx, C., Fernández-Murga, M. L., & Sanz, Y. (2013). Duodenal-mucosal bacteria associated with celiac disease in children. *Applied and environmental microbiology*, 79(18), 5472–5479. <https://doi.org/10.1128/AEM.00869-13>

Sanz, Y., Collado, M. C., Haros, M., & Dalmau, J. (2004). Funciones metabólico-nutritivas de la microbiota intestinal y su modulación a través de la dieta: Probióticos y prebióticos. *Acta Pediatrca Espanola*, 62(11), 520–526.

Sears C. L. (2009). Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes. *Clinical microbiology reviews*, 22(2), 349–369.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00053-08>

Stanhope, K. L., & Havel, P. J. (2008). Endocrine and metabolic effects of consuming beverages sweetened with fructose, glucose, sucrose, or high-fructose corn syrup. *The American journal of clinical nutrition*, 88(6), 1733S–1737S.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.25825D>

Stanhope, K. L., & Havel, P. J. (2010). Fructose consumption: recent results and their potential implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1190, 15–24.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05266.x>

Stavric, B., Johnson, W. J., Clayman, S., Gadd, R. E., & Chartrand, A. (1976). Effect of fructose administration on serum urate levels in the uricase inhibited rat. *Experientia*, 32(3), 373–374. <https://doi.org/10.1007/BF01940847>

Stirpe, F., Della Corte, E., Bonetti, E., Abbondanza, A., Abbati, A., & De Stefano, F. (1970). Fructose-induced hyperuricaemia. *Lancet (London, England)*, 2(7686), 1310–1311. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(70\)92269-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(70)92269-5)

Suárez, J.E.. (2013). Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutrición Hospitalaria*, 28(Supl. 1), 38-41. Recuperado en 06 de julio de 2020, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000700009&lng=es&tlng=es.

Taki, K., Tsuruta, Y., & Niwa, T. (2007). Indoxyl sulfate and atherosclerotic risk factors in hemodialysis patients. *American journal of nephrology*, 27(1), 30–35.
<https://doi.org/10.1159/000098542>

Teff, K. L., Grudziak, J., Townsend, R. R., Dunn, T. N., Grant, R. W., Adams, S. H., Keim, N. L., Cummings, B. P., Stanhope, K. L., & Havel, P. J. (2009). Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 94(5), 1562–1569.
<https://doi.org/10.1210/jc.2008-2192>

Tojo, R., Suárez, A., Clemente, M. G., de los Reyes-Gavilán, C. G., Margolles, A., Gueimonde, M., & Ruas-Madiedo, P. (2014). Intestinal microbiota in health and

disease: role of bifidobacteria in gut homeostasis. *World journal of gastroenterology*, 20(41), 15163–15176. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i41.15163>

Tremaroli, V., & Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 489(7415), 242–249. <https://doi.org/10.1038/nature11552>

Vanholder, R., Baurmeister, U., Brunet, P., Cohen, G., Glorieux, G., Jankowski, J., & European Uremic Toxin Work Group (2008). A bench to bedside view of uremic toxins. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 19(5), 863–870. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007121377>

Vanholder, R., De Smet, R., Glorieux, G., Argilés, A., Baurmeister, U., Brunet, P., Clark, W., Cohen, G., De Deyn, P. P., Deppisch, R., Descamps-Latscha, B., Henle, T., Jörres, A., Lemke, H. D., Massy, Z. A., Passlick-Deetjen, J., Rodriguez, M., Stegmayr, B., Stenvinkel, P., Tetta, C., ... European Uremic Toxin Work Group (EUTox) (2003). Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney international*, 63(5), 1934–1943. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00924.x>

Vanholder, R., Massy, Z., Argiles, A., Spasovski, G., Verbeke, F. R. A. N. C. I. S., & Lameire, N. (2005). Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 20(6), 1048-1056. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh813>

Vázquez, I. G., Maza, A. D., & Mariles, J. J. A. (2003). Fisiopatología del síndrome urémico. *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González*, 6(1), 13-24.

Volynets, V., Louis, S., Pretz, D., Lang, L., Ostaff, M. J., Wehkamp, J., & Bischoff, S. C. (2017). Intestinal Barrier Function and the Gut Microbiome Are Differentially Affected in Mice Fed a Western-Style Diet or Drinking Water Supplemented with Fructose. *The Journal of nutrition*, 147(5), 770–780. <https://doi.org/10.3945/jn.116.242859>

Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y. Y., Keilbaugh, S. A., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W. A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F. D., & Lewis, J. D. (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science (New York, N.Y.)*, 334(6052), 105–108. <https://doi.org/10.1126/science.1208344>

Xu, M. X., Yu, R., Shao, L. F., Zhang, Y. X., Ge, C. X., Liu, X. M., Wu, W. Y., Li, J. M., & Kong, L. D. (2016). Up-regulated fractalkine (FKN) and its receptor CX3CR1 are

involved in fructose-induced neuroinflammation: Suppression by curcumin. *Brain, behavior, and immunity*, 58, 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.01.001>

Yamamoto, H., Tsuruoka, S., Ioka, T., Ando, H., Ito, C., Akimoto, T., Fujimura, A., Asano, Y., & Kusano, E. (2006). Indoxyl sulfate stimulates proliferation of rat vascular smooth muscle cells. *Kidney international*, 69(10), 1780–1785. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000340>

Yoshida, K., Yoneda, T., Kimura, S., Fujimoto, K., Okajima, E., & Hirao, Y. (2006). Polyamines as an Inhibitor on Erythropoiesis of Hemodialysis Patients by In Vitro Bioassay Using the Fetal Mouse Liver Assay. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 10(3), 267–272. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2006.00370.x>

Zhang, C., Zhang, M., Pang, X., Zhao, Y., Wang, L., & Zhao, L. (2012). Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations. *The ISME journal*, 6(10), 1848–1857. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.27>

Zhang, L. S., & Davies, S. S. (2016). Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for new therapeutic interventions. *Genome medicine*, 8(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0296-x>

Zhang, Y. H., An, T., Zhang, R. C., Zhou, Q., Huang, Y., & Zhang, J. (2013). Very high fructose intake increases serum LDL-cholesterol and total cholesterol: a meta-analysis of controlled feeding trials. *The Journal of nutrition*, 143(9), 1391–1398. <https://doi.org/10.3945/jn.113.175323>

Zoetendal, E. G., Vaughan, E. E., & de Vos, W. M. (2006). A microbial world within us. *Molecular microbiology*, 59(6), 1639–1650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05056.x>