

Mtra. María Elena Contreras Garfias
 Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
 PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

Datos del Alumno

Nombre :	
Matrícula :	Licenciatura :
Domicilio :	
Teléfono :	Celular :
Correo Electrónico :	CURP :

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto :							
Lugar donde se realizó el Servicio Social :							
Dependencia :							
Entidad Federativa :							
Municipio :	Localidad :						
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año

PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: _____ Tipo: _____

Orientación: _____

Monica Elisa Drazos S.

FIRMAS

[Firma]

Asesor Interno
 Nombre, firma y No. Económico

Asesor Externo
 Nombre, firma y No. Económico

[Firma]

Dra. Verónica Barón Flores

[Firma]

Alumno
 Nombre, firma

Vo. Bo. de la Comisión
 Nombre y firma de la persona que autoriza

Ciudad de México., a 22 de Julio de 2021.

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana
PRESENTE

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el (la) alumno (a): Andrea Elsa Ortiz Mercado con matrícula: 2163063029 concluyó el proyecto de Servicio Social: “Análisis de resultados sobre la cuantificación de IgA intestinal de ratones BALB/c machos *sometidos a estrés tratados con lactoferrina bovina*”. Qué se realizó en Laboratorio de Microbiología Molecular (N-013)-modalidad virtual ubicado en Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco del 18 de Enero de 2021 al 18 de Julio de 2021 bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE



Maria Elisa Drago Serrano

17243

Ciudad de México., a 22 de Julio de 2021.

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana
PRESENTE

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el (la) alumno (a): Andrea Elsa Ortiz Mercado con matrícula: 2163063029 concluyó el proyecto de Servicio Social: “Análisis de resultados sobre la cuantificación de IgA intestinal de ratones BALB/c machos *sometidos a estrés tratados con lactoferrina bovina*”. Qué se realizó en Laboratorio de Microbiología Molecular (N-013)-modalidad virtual ubicado en Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco del 18 de Enero de 2021 al 18 de Julio de 2021 bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE



Fabiola Guzmán Mejía

43134



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad: Xochimilco

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Lic. Química Farmacéutica Biológica**

**Título: Análisis de resultados sobre la cuantificación de
IgA intestinal de ratones BALB/c machos sometidos a
estrés tratados con lactoferrina bovina**

**Proyecto genérico: Evaluación de Productos
Relacionados con la Salud**

Nombre: Andrea Elsa Ortiz Mercado

Matricula: 2163063029

Correo Electrónico: and.om.hsn@gmail.com

Fecha inicio: 18 enero 2021 Fecha fin: 18 julio 2021

Asesores:

María Elisa Drago Serrano - Fabiola Guzmán Mejía

María Elisa Drago S.

Firma

Firma

Índice

Resumen	3
Abstract	4
1. Introducción	5
2. Marco teórico	6
2.1 Estrés	6
2.2 IgA	7
2.3 Lactoferrina	8
3. Justificación	10
4. Objetivos	11
4.1 Objetivo general	11
4.2 Objetivos específicos	11
5. Metodología	12
6. Resultados	13
Concentración de IgA:	13
6.1 Región proximal de ratones tratados con agua	13
6.2 Colon de ratones tratados con agua	15
6.3 Región del proximal de ratones tratados con bLf	17
6.4 Colon de ratones tratados con bLf	19
6.5 Región del proximal de ratones tratados con agua y con bLf	21
6.6 Colon de ratones tratados con agua y con bLf	23
7. Resumen de resultados	25
8. Discusión	26
9. Conclusión	27
10. Referencias	27

Resumen

Antecedentes: El estrés es una respuesta ante un evento considerado como una amenaza al organismo y es necesario para su supervivencia. El estrés altera la producción de IgA que tiene un papel importante en la homeostasis intestinal. La lactoferrina bovina (bLf) es una proteína capaz de modular la IgA. **Justificación:** Actualmente se desconoce el efecto combinado del estrés y de la bLf sobre la generación de IgA. Por lo anterior, en el presente reporte, se analizó por primera vez, una base de datos sobre el efecto de la bLf sobre la concentración de IgA en condiciones de estrés. **Objetivo:** Analizar una base de datos sobre la cuantificación de IgA intestinal de ratones BALB/c machos sometidos a estrés tratados con bLf. **Metodología:** El análisis de la concentración de IgA en líquido intestinal de la región proximal y colon, de dos grupos independientes (control y estrés; bLf y estrés-bLf) se realizó con la prueba t de student. Para comparaciones de cuatro grupos independientes (control, estrés, bLf y estrés-bLf) se aplicó en ANOVA de una vía y la prueba post hoc de Tukey. Las diferencias significativas fueron consideradas a valores de $p < 0.05$. **Resultados:** El análisis de dos grupos indico que la concentración de IgA aumento en el grupo estresado y en el grupo estrés-bLf en comparación con sus correspondientes grupos control, tanto en la región del proximal como en colon. El ANOVA indico que la concentración de IgA aumento en el grupo estresado en relación con el control solo en la región proximal, y en el grupo estresado en comparación con el grupo estresado-bLf en el colon. **Conclusión:** El estrés incrementó la concentración de IgA, en ambas regiones analizadas. Asimismo, la bLf previno los efectos del estrés sobre el aumento de la concentración de IgA en colon, probablemente a su capacidad de modular la permeabilidad intestinal. **Perspectiva:** El análisis de estos resultados analizados podrían fundamentar el uso de bLf como aditivo de formulaciones farmacológicas destinadas al tratamiento de enfermedades asociadas al estrés al regular las concentraciones de IgA en la región del proximal y colon.

Palabras clave: Estrés, IgA, lactoferrina bovina, homeostasis intestinal.

Abstract

Background: Stress is a response to an event considered as a threat to the body and is necessary for survival. Stress alters the production of IgA, which plays an important role in intestinal homeostasis. Bovine lactoferrin (bLf) is a protein capable of modulating IgA. **Justification:** The combined effect of stress and bLf on IgA generation is currently unknown. Therefore, in this report, a database on the effect of bLf on IgA concentration under stress conditions was analyzed for the first time. **Objective:** To analyze a database on the quantification of intestinal IgA from male BALB / c mice underwent stress treated with bLf. **Method:** The analysis of the IgA concentration in intestinal fluid of the proximal region and colon, for two independent groups (control and stress; bLf and stress-bLf) was carried out with the student's *t* test. For comparisons of four independent groups (control, stress, bLf and stress-bLf) the one-way ANOVA and Tukey's post hoc test were applied. Significant differences were considered at $p < 0.05$ value. **Results:** The analysis of two groups indicated that IgA concentration increased in the stressed group and in the stress-bLf group compared to their corresponding control group, both in the proximal region and colon. The ANOVA indicated that IgA concentration increased in the stressed group relative to the control only in the proximal region, and in the stressed group compared to the stressed-bLf group in colon. **Conclusion:** Stress increased IgA concentration in both regions analyzed. Bovine lactoferrin, prevented the effects of stress on the increase of the IgA concentration in colon, probably due to its ability to modulate intestinal permeability. **Perspective:** These analyzed results could support the use of bLf as an additive in pharmacological formulations for the treatment of stress-related diseases by regulating IgA concentrations in the proximal and colon region.

Keywords: Stress, IgA, bovine lactoferrin, intestinal homeostasis.

1. Introducción

El estrés es una respuesta ante estímulos externos en situaciones de amenaza, y su principal función es mantener la homeostasis corporal. En estudios animales el estrés puede ser crónico, el cual el estímulo estresor es repetido, y tiene diferente duración. El estrés puede tener impacto en el sistema inmunitario intestinal, en el cual la inmunoglobulina A (IgA) tiene un papel importante en la protección y en la homeostasis intestinal.

La producción de IgA puede variar a lo largo del tracto intestinal, y está relacionada con la carga de la microbiota. Por ende, la secreción de IgA en el colon es mayor en comparación con la región del proximal debido a la abundante microbiota en esa región.

El estrés tiene efectos moduladores en la secreción de IgA, como se ha mostrado en humanos y en modelos experimentales. Actualmente se ha emprendido la búsqueda de moléculas que regulen la secreción de IgA bajo condiciones de estrés, como en el caso de la lactoferrina bovina (bLf). La bLf es una es una glucoproteína de unión a hierro con diversas funciones, en las que destacan su capacidad de modular la generación de IgA y la función de la barrera intestinal.

De acuerdo a lo anterior, en el presente trabajo se analizaron los datos para cuantificar la concentración de IgA en la región del proximal y colon de ratones machos sometidos a estrés y tratados con lactoferrina bovina (bLf).

2. Marco teórico

2.1 Estrés

La respuesta biológica conocida como estrés se da ante estímulos externos en situaciones de amenaza, y su principal función es mantener la homeostasis corporal, por lo tanto, hay cambios conductuales y fisiológicos para la supervivencia, asimismo, activa a los sistemas endocrino, nervioso e inmunológico (Smith & Vale, 2006). Estos sistemas tienen la finalidad de conservar la salud al controlar diversas funciones para mantener el equilibrio interno del organismo; el sistema nervioso percibe y da respuesta a los cambios externos e internos, el sistema inmune detecta y elimina los agentes peligrosos externos o internos y el sistema endocrino proporciona la respuesta más conveniente para la lucha (Cabrera et al., 2017).

Se considera que el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) es el principal sistema neuroendocrino que regula varios procesos corporales en respuesta a estresores psicológicos y físicos. Este eje es regulado por el factor de liberación de corticotropina (CRF), el cual es liberado en respuesta al estrés, y este a su vez, induce la liberación de hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en la circulación sistémica, esta última induce la secreción de glucocorticoides (cortisol en humanos y corticosterona en roedores) (Farzi et al., 2018). Los glucocorticoides proporcionan a los organismos los mecanismos de protección de un entorno cambiante y amenazante al potenciar los efectos en conjunto con la adrenalina y la noradrenalina, como: aumento de la excitación, el estado de alerta y la vigilancia; centrar la atención y elevar la temperatura central; y el aumento del umbral del dolor. Sin embargo, una respuesta al estrés demasiado grande o larga puede ser perjudicial para el cuerpo (Vitlic et al., 2014).

Se ha visto que hay una comunicación entre el sistema neuroendocrino y la microbiota intestinal, por lo que el estrés al activar el eje HPA afectará la composición de ésta, y aumentará la permeabilidad gastrointestinal al debilitar la barrera de la mucosa intestinal por el aumento de los niveles circulantes de glucocorticoides (Farzi et al., 2018; Kawashima et al., 2014).

El tracto intestinal alberga bacterias comensales que brindan funciones beneficiosas al huésped, como la digestión, la producción de nutrientes, la desintoxicación y la protección contra patógenos con el fin de mantener la homeostasis intestinal (Rengarajan et al., 2020; Wu & Wu, 2012). Por lo tanto, el sistema inmunológico tiene la función de distinguir entre las partículas propias y aceptarlas, y reconocer las no propias para procesarlas y eliminarlas.

Se ha demostrado que la inducción de estrés a través de la restricción física o la exposición a un factor de estrés social induce alteraciones en la comunidad microbiana intestinal, y aumenta la susceptibilidad a las infecciones intestinales (Rengarajan et al., 2020). Es por ello que la relación entre el estrés y el sistema inmune puede verse como un rasgo adaptativo, esto cuando se trata de estrés agudo, sin embargo, la exposición crónica al estrés puede tener efectos perjudiciales sobre la inmunidad, como inmunosupresión (Vitlic et al., 2014; McEwen, 2017).

Como se ha mencionado el tracto intestinal actúa como barrera, esto gracias a que en él se encuentra una capa mucosa.

2.2 IgA

La IgA es un componente humoral del sistema inmunitario asociado a la mucosa intestinal, mejor conocido por sus siglas en inglés GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue).

La inmunoglobulina (Ig) es una proteína compuesta por dos cadenas pesadas (H) y ligeras (L) idénticas conectadas mediante enlaces disulfuro. Ambas cadenas están compuestas por dominios variables (V) y dominios constantes (C). Funcionalmente, la Ig se divide en la región del fragmento de unión al antígeno (Fab) (dominios V_{HL} emparejados responsables de la unión del epítipo específico con los dominios C_L y $C_H 1$) conectados a través de una región bisagra al fragmento de la región cristalizante (Fc, elaborado con dominios C_H restantes). Las diferencias entre los dominios constantes de Fc permiten clasificar las inmunoglobulinas en cinco isotipos: IgG, IgA, IgM, IgE e IgD (Pietrzak et al., 2020).

La IgA está presente en secreciones; saliva, leche materna, suero, pero en mayor abundancia en las superficies mucosas, y constituye más del 80 % de todos los anticuerpos producidos por el GALT. La IgA en las secreciones mucosas del tracto gastrointestinal, conocida como IgA secretora intestinal (SIgA), se encuentra como dímero conectado por un pequeño polipéptido llamado cadena J y secretada en los fluidos de la mucosa por el receptor de Ig polimérico (pIgR) por lo que posee un componente secretor (Bunker & Bendelac, 2018; Pabst & Slack, 2020).

La producción de IgA puede variar a lo largo del tracto intestinal, y está relacionada con la carga de la microbiota. Por ende, la secreción de IgA en el colon es mayor en comparación con la región del proximal, debido a la abundante microbiota en esa región.

Entre sus funciones están la de inhibir la adherencia bacteriana y la neutralización de enzimas, virus y toxinas. Se une de forma específica a moléculas presentes en la superficie bacteriana, causando la inmovilización del microorganismo a la capa mucosa y con ello su eliminación. En el caso de partículas virales, enzimas y toxinas, la SIgA bloquea los receptores específicos, o causa una modificación conformacional del sitio de unión (Lycke & Bemark, 2017). Por lo tanto, actúa como la primera línea de defensa contra patógenos y facilita la colonización de la superficie del moco por la microbiota comensal y regula la homeostasis inmunitaria (Pietrzak et al., 2020).

2.3 Lactoferrina

La lactoferrina es una glucoproteína de unión a hierro de la transferrina, monomérica de cadena polipeptídica única de 80 kDa de aproximadamente 690 residuos de aminoácidos. Se encuentra en secreciones como; leche, saliva, lágrimas y secreciones nasales, sintetizadas por las células epiteliales, pero también se encuentra presente en los gránulos neutrofílicos (Actor et al., 2009). Por lo que se le considera una proteína de defensa de primera línea ya que actúa contra infecciones microbianas.

La lactoferrina bovina se puede extraer de la leche o el suero mediante cromatografía de intercambio iónico y se utiliza en una variedad de fórmulas para lactantes donde se agrega para acercar los niveles a los que se encuentran en la leche materna humana. También se está convirtiendo en un suplemento popular para mejorar la inmunidad y apoyar la salud digestiva, la absorción de hierro y la homeostasis (Dix & Wright, 2018).

La lactoferrina humana y la bLf poseen un 70-77% de homología de secuencia de aminoácidos, pero también, debido a distintos patrones de glucosilación, ambas ejercen multifunciones idénticas como: actividades antibacterianas, antifúngicas, antivirales y antiparasitarias, antiinflamatorias e inmunomoduladoras (Actor et al., 2009; Rosa et al., 2017).

Se ha demostrado en modelos experimentales que la administración oral de lactoferrina bovina, aumenta la secreción de IgA e IgG en mucosa murina. Lo anterior se ha relacionado con la capacidad de actuar sobre las células presentadoras de antígeno, linfocitos T y linfocitos B, que están involucrados en la generación de IgA (Sfeir et al., 2004; Siqueiros-Cendón et al., 2014).

La bLf tiene la capacidad de aumentar la expresión a nivel proteica y a nivel transcripcional de las proteínas de unión estrechas. Dichas proteínas regulan la permeabilidad intestinal, por lo tanto, el tratamiento con bLf fortalece la integridad de la barrera intestinal necesaria para la protección contra infecciones bacterianas y para el mantenimiento de la homeostasis intestinal (Zhao et al., 2019; Wu et al., 2014).

3. Justificación

Actualmente se sabe que el estrés y la bLf por sí mismos, regulan la generación de IgA, sin embargo, se desconoce el efecto combinado de ambos sobre la generación de IgA. Por lo tanto, en el presente reporte de servicio social, se analizó por primera vez una base de datos sobre el efecto de la bLf sobre la concentración de IgA en condiciones de estrés.

Estas evidencias podrían ayudar a comprender los efectos del estrés sobre la homeostasis intestinal. Asimismo, los resultados analizados podrían fundamentar el uso de bLf como aditivo de formulaciones farmacológicas destinadas al tratamiento de enfermedades asociadas al estrés al regular las concentraciones de IgA en la región del proximal y colon.

4. Objetivos

4.1 Objetivo general

Analizar los resultados sobre la cuantificación de IgA intestinal de ratones BALB/c machos sometidos a estrés tratados con lactoferrina bovina

4.2 Objetivos específicos

1. Procesar los valores de absorbancia de la cuantificación de la proteína total en líquidos intestinales de la región proximal y colon.
2. Procesar los valores de absorbancia del ensayo inmunoenzimático de la curva estándar de las cadenas kappa de la IgA de ratón.

5. Metodología

A partir de la base de datos en Excel se procesaron los resultados para:

1. Graficar y realizar la regresión lineal de los valores de la curva estándar de albúmina sérica bovina para cuantificar la proteína total en las muestras de líquido intestinal. En el presente reporte no se hizo el análisis de proteína total (PT) pero fue necesario para llevar a cabo el análisis de la cuantificación de IgA.
2. Graficar y realizar la regresión lineal de los valores de la curva estándar de las cadenas kappa de la IgA de ratón para cuantificar la IgA total.
3. Calcular los $\mu\text{g/mL}$ de IgA total en las muestras de líquido intestinal con base en la curva estándar y calcular la concentración de IgA total en $\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$.
4. Comparar los resultados de $\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$ entre dos grupos independientes mediante la prueba paramétrica t Student.
5. Analizar mediante la prueba paramétrica ANOVA los datos en $\mu\text{g}/100 \text{ mg pt}$ entre cuatro grupos independientes.

6. Resultados

Concentración de IgA:

6.1 Región proximal de ratones tratados con agua

En la **Tabla 1** se muestran las concentraciones de IgA μg por cada 100 mg de PT en la región proximal de ratones con estrés y sin estrés tratados con agua. La Tabla también indica el promedio y la desviación estándar de la concentración de IgA de cada grupo.

	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px ctl sin estrés	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px estrés
	408.34	598.55
	338.83	585.91
	341.99	448.78
	445.62	501.86
	405.81	571.37
	434.88	348.31
	460.16	491.75
	549.26	529.04
	386.86	534.72
	483.54	551.15
	393.81	463.95
	346.41	603.918
	523.033	586.856
	481.327	549.573
	541.991	731.564
	677.852	567.899
	471.848	499.652
	626.667	689.226
Promedio	462.12	547.45
DS	94.76	86.83

Tabla 1. Concentración de IgA en la región proximal de ratones sin estrés y con estrés tratados con agua

Los valores del promedio y DS de la **Tabla 1** se representa en la **Figura 1**. Se puede observar que la concentración de IgA en la región proximal de ratones tratados con agua incremento significativamente en el grupo con estrés ($p=0.008$) comparada con el grupo sin estrés.

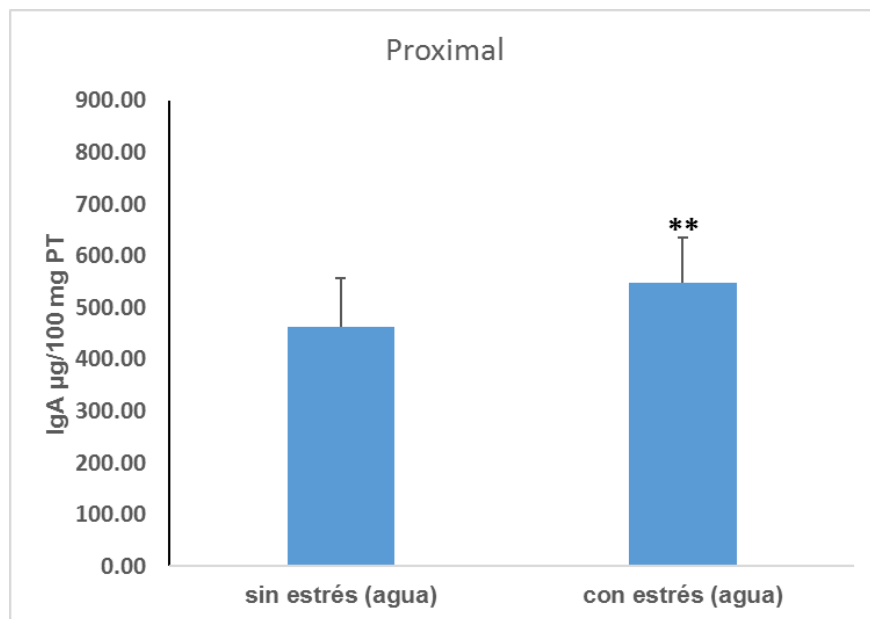


Figura 1. Concentración de IgA ($\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$) en el grupo sin estrés y con estrés en la región del proximal. ** $p<0.01$ vs grupo sin estrés

6.2 Colon de ratones tratados con agua

En la **Tabla 2** se muestran las concentraciones de IgA μg por cada 100 mg de PT en la región del colon de ratones con estrés y sin estrés tratados con agua. La Tabla también indica el promedio y la desviación estándar de la concentración de IgA de cada grupo.

	IgA machos $\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$ Col sin estrés	IgA machos $\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$ Col estrés
	534.91	340.09
	472.80	1076.78
	245.94	932.23
	296.49	611.82
	404.55	786.89
	345.78	342.62
	348.94	620.66
	264.27	469.00
	377.38	384.96
	316.71	249.10
	278.17	642.78
	305.97	431.722
	289.542	489.226
	294.597	301.548
	608.025	304.392
	310.711	384.645
	203.918	304.392
	778.325	399.179
Promedio	370.95	504.00
DS	144.31	232.71

Tabla 2. Concentración de IgA en la región del colon de ratones sin estrés y con estrés tratados con agua

Los valores del promedio y DS de la **Tabla 2** se representa en la **Figura 2**. Se puede observar que la concentración de IgA en la región del colon de ratones tratados con agua incremento significativamente en el grupo con estrés ($p= 0.047$) comparada con el grupo sin estrés.

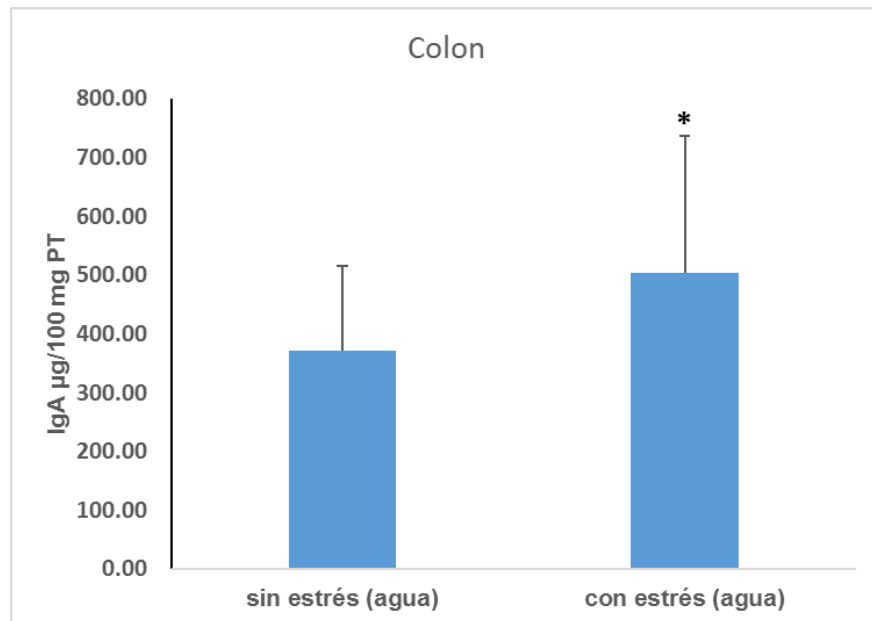


Figura 2. Concentración de IgA ($\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$) en el grupo sin estrés y con estrés en la región del colon. * $p<0.05$ vs grupo sin estrés

6.3 Región del proximal de ratones tratados con bLf

En la **Tabla 3** se muestran las concentraciones de IgA μg por cada 100 mg de PT en la región proximal de ratones con estrés y sin estrés tratados con bLf. La Tabla también indica el promedio y la desviación estándar de la concentración de IgA de cada grupo.

	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px sin estrés bLf	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px estrés bLf
	484.171	545.466
	420.348	522.717
	508.815	501.232
	404.234	460.474
	444.044	489.542
	487.014	394.755
	449.415	714.186
	395.071	460.790
	528.404	503.760
	470.585	537.567
	500.916	622.875
	349.258	564.107
Promedio	453.52	526.46
DS	53.25	82.56

Tabla 3. Concentración de IgA en la región del proximal de ratones sin estrés y con estrés tratados con bLf

Los valores del promedio y DS de la **Tabla 3** se representa en la **Figura 3**. Se puede observar que la concentración de IgA en la región del proximal de ratones tratados con bLf incremento significativamente en el grupo con estrés ($p=0.0174$) comparada con el grupo sin estrés.

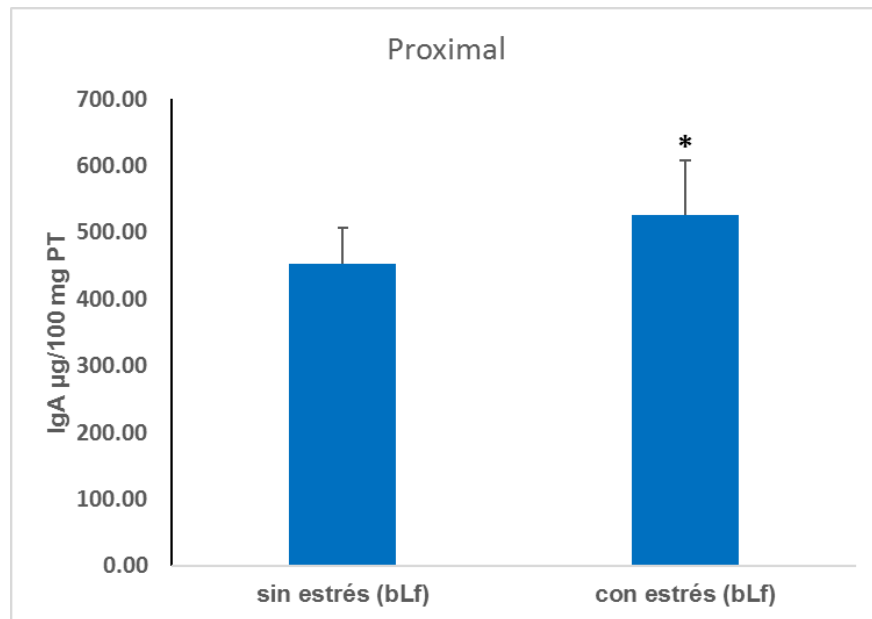


Figura 3. Concentración de IgA ($\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$) en el grupo sin estrés y con estrés en la región del proximal. * $p<0.05$ vs grupo sin estrés

6.4 Colon de ratones tratados con bLf

En la **Tabla 4** se muestran las concentraciones de IgA μg por cada 100 mg de PT en la región del colon de ratones con estrés y sin estrés tratados con bLf. La Tabla también indica el promedio y la desviación estándar de la concentración de IgA de cada grupo.

	IgA machos $\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$ Col sin estrés bLf	IgA machos $\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$ Col estrés bLf
	191.912	455.419
	243.728	267.741
	235.513	255.735
	232.670	459.526
	117.030	233.934
	484.171	349.573
	432.038	282.275
	252.575	387.172
	190.016	256.367
	229.194	336.619
	417.504	388.436
	90.806	275.956
Promedio	259.76	329.06
DS	122.80	79.11

Tabla 4. Concentración de IgA en la región del colon de ratones sin estrés y con estrés tratados con bLf

Los valores del promedio y DS de la **Tabla 4** se representa en la **Figura 4**. Se puede observar que no hay diferencia significativa en la concentración de IgA en la región del colon de ratones tratados con bLf.

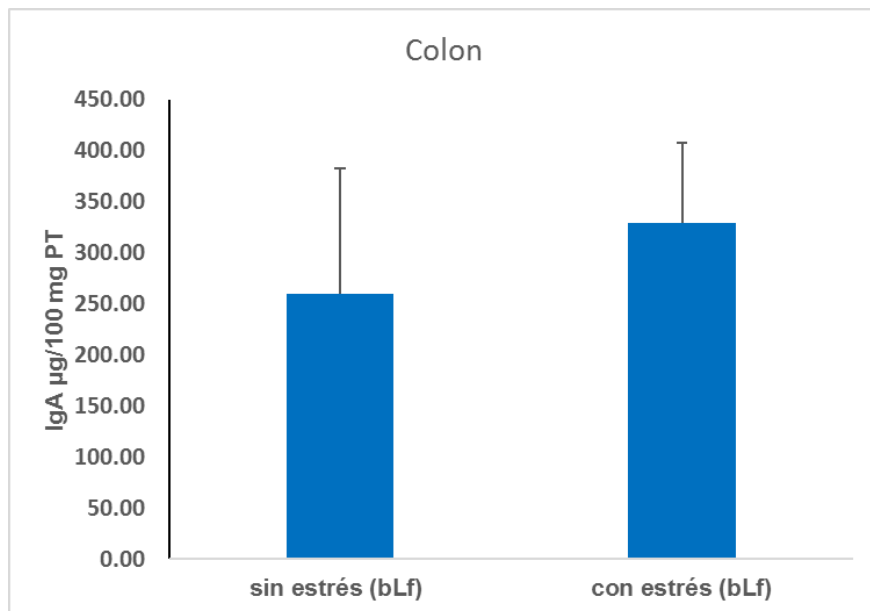


Figura 4. Concentración de IgA ($\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$) en el grupo sin estrés y con estrés en la región del colon.

6.5 Región del proximal de ratones tratados con agua y con bLf

En la **Tabla 5** se muestran las concentraciones de IgA μg por cada 100 mg de PT en la región proximal de ratones con estrés y sin estrés tratados con agua y con bLf. La Tabla también indica el promedio y la desviación estándar de la concentración de IgA de cada grupo.

	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px ctl sin estrés	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px estrés	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px sin estrés bLf	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Px estrés bLf
	408.34	598.55	484.171	545.466
	338.83	585.91	420.348	522.717
	341.99	448.78	508.815	501.232
	445.62	501.86	404.234	460.474
	405.81	571.37	444.044	489.542
	434.88	348.31	487.014	394.755
	460.16	491.75	449.415	714.186
	549.26	529.04	395.071	460.790
	386.86	534.72	528.404	503.760
	483.54	551.15	470.585	537.567
	393.81	463.95	500.916	622.875
	346.41	603.918	349.258	564.107
	523.033	586.856		
	481.327	549.573		
	541.991	731.564		
	677.852	567.899		
	471.848	499.652		
	626.667	689.226		
Promedio	462.12	547.45	453.52	526.46
DS	94.76	86.83	53.25	82.56

Tabla 5. Concentración de IgA en la región del proximal de ratones sin estrés y con estrés tratados con agua y bLf

Los valores del promedio y DS de la **Tabla 5** se representa en la **Figura 5**. Se puede observar que la concentración de IgA en la región proximal de ratones estresados tratados con agua incremento significativamente ($p=0.0165$) comparada con el grupo sin estrés.

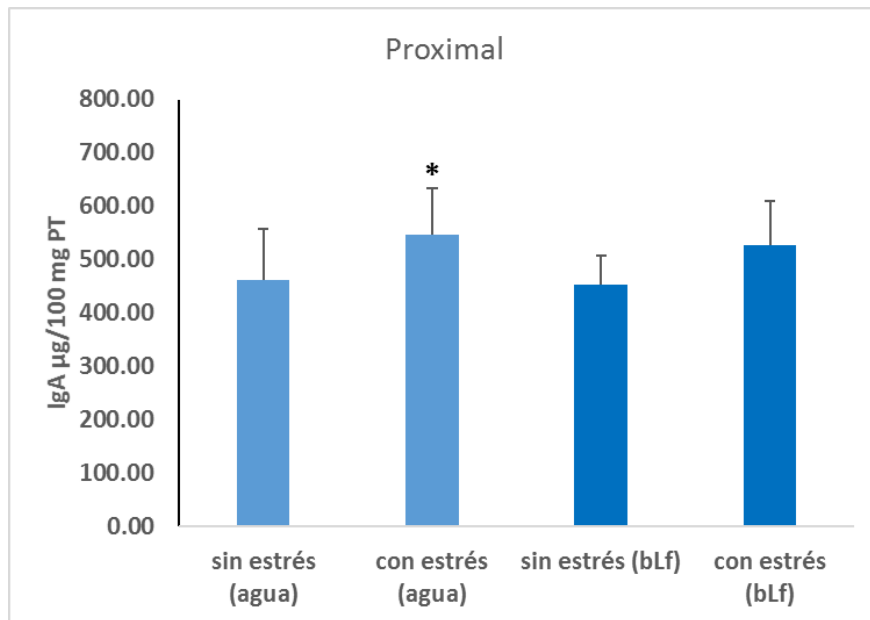


Figura 5. Concentración de IgA ($\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$) en el grupo sin estrés y con estrés en la región del proximal de ratones tratados con agua y con bLf. * $p<0.05$ vs grupo sin estrés (agua)

6.6 Colon de ratones tratados con agua y con bLf

En la **Tabla 6** se muestran las concentraciones de IgA μg por cada 100 mg de PT en colon de ratones con estrés y sin estrés tratados con agua y con bLf. La Tabla también indica el promedio y la desviación estándar de la concentración de IgA de cada grupo.

	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Col sin estrés	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Col estrés	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Col sin estrés bLf	IgA machos $\mu\text{g}/100$ mg PT Col stress bLf
	534.91	340.09	191.912	455.419
	472.80	1076.78	243.728	267.741
	245.94	932.23	235.513	255.735
	296.49	611.82	232.670	459.526
	404.55	786.89	117.030	233.934
	345.78	342.62	484.171	349.573
	348.94	620.66	432.038	282.275
	264.27	469.00	252.575	387.172
	377.38	384.96	190.016	256.367
	316.71	249.10	229.194	336.619
	278.17	642.78	417.504	388.436
	305.97	431.722	90.806	275.956
	289.542	489.226		
	294.597	301.548		
	608.025	304.392		
	310.711	384.645		
	203.918	304.392		
	778.325	399.179		
Promedio	370.95	504.00	259.76	329.06
DS	144.31	232.71	122.80	79.11

Tabla 6. Concentración de IgA en la región del colon de ratones sin estrés y con estrés tratados con agua y bLf

Los valores del promedio y DS de la **Tabla 6** se representa en la **Figura 6**. Se puede observar que la concentración de IgA en colon de ratones estresados tratados con agua incremento significativamente ($p= 0.0295$) comparada con el grupo con estrés tratados con bLf.

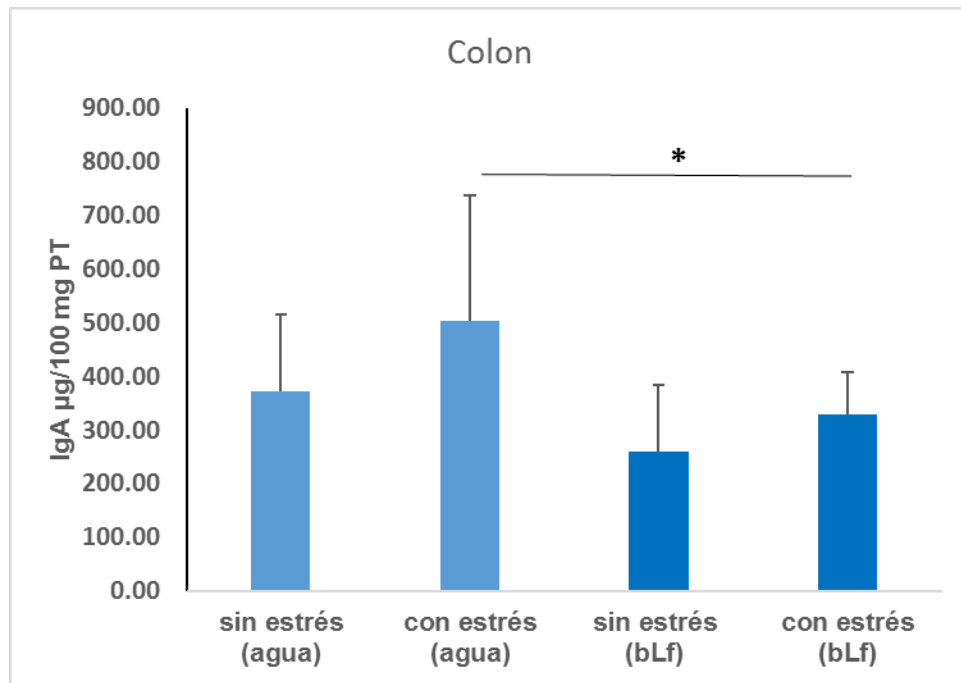


Figura 6. Concentración de IgA ($\mu\text{g}/100 \text{ mg PT}$) en el grupo sin estrés y con estrés en colon de ratones tratados con agua y con bLf. $*p<0.05$ vs grupo estrés (agua) vs estrés (bLf)

7. Resumen de resultados

En la **Tabla 7** se resumen los resultados del análisis estadístico de los grupos de estudio

	ANOVA	¿Significante? P<0.05?	Resumen
Proximal	sin estrés (agua) vs con estrés (agua)	Si	*
	sin estrés (agua) vs con estrés (bLf)	No	ns
	con estrés (agua) vs con estrés (bLf)	No	ns
	sin estrés (bLf) vs con estrés (bLf)	No	ns
Colon	sin estrés (agua) vs con estrés (agua)	No	ns
	sin estrés (agua) vs con estrés (bLf)	No	ns
	con estrés (agua) vs con estrés (bLf)	Si	*
	sin estrés (bLf) vs con estrés (bLf)	No	ns

8. Discusión

En el presente trabajo se demostró que hay un incremento significativo de la concentración de IgA en las regiones del proximal y colon en los grupos sometidos a estrés. Estos datos concuerdan con el aumento de IgA en la región proximal y distal de acuerdo a lo reportado en un estudio de estrés por restricción de movimiento en ratas. El aumento de IgA podría deberse a la liberación de catecolaminas y glucocorticoides (hormonas suprarrenales) que favorecen el transporte de IgA mediante el receptor de inmunoglobulina polimérica (Reyna-Garfias et al., 2010).

En el presente estudio se observó que en condiciones de estrés la bLf redujo el aumento de IgA en colon. Estos datos sugieren que la bLf previene los efectos del estrés sobre el incremento de la concentración de IgA en colon. Las propiedades inmunomoduladoras de la bLf en condiciones de estrés ya han sido reportadas en estudios previos (Peña-Juárez et al., 2016).

Como bien se sabe, la bLf es un inmunomodulador, capaz de regular la función de la barrera intestinal de acuerdo a estudios anteriormente realizados (Wu et al., 2014; Zhao et al., 2019), por lo que es capaz de alterar la respuesta inmunitaria; aumentando o reduciendo las funciones inmunes innatas y adaptativas (Siqueiros-Cendón et al., 2014; Actor et al., 2009).

En estudios donde se aplicó; estrés psicológico, pruebas de nado forzado y una dieta alta en grasas, se reportó que cuando se hace uso de bLf, se tiene un efecto supresor sobre el incremento de corticosterona (Takeuchi et al., 2017; McManus et al., 2015). Estos resultados pueden sugerir que el efecto de la bLf sobre la reducción de la corticosterona podría estar relacionada con la disminución de la concentración de IgA.

Por lo tanto, la concentración de IgA se ve afectada por el estrés, éste a su vez, está relacionado con las hormonas suprarrenales, y que un incremento o disminución de la concentración del anticuerpo va a depender del uso de bLf.

9. Conclusión

De acuerdo a lo anterior, se logró el objetivo de analizar los datos sobre el efecto de la bLf en condiciones de estrés. Los resultados obtenidos sugieren que el estrés incrementó la concentración de IgA, tanto en la región del proximal como en el colon. Asimismo, el tratamiento con bLf previno los efectos del estrés sobre el aumento de la concentración de IgA en colon. Lo anterior podría estar relacionado con la capacidad de la bLf en regular la función de la barrera intestinal.

El análisis de estos datos ayudó a comprender los efectos del estrés sobre la homeostasis intestinal. Estos datos pueden fundamentar el uso de bLf como aditivo de formulaciones farmacológicas destinadas al tratamiento de enfermedades asociadas al estrés al regular las concentraciones de IgA en la región del proximal y colon.

10. Referencias

- Actor, J. K., Hwang, S. A., & Kruzel, M. L. (2009). Lactoferrin as a natural immune modulator. *Current pharmaceutical design*, 15(17), 1956–1973. doi:10.2174/138161209788453202
- Bunker, J. J., & Bendelac, A. (2018). IgA Responses to Microbiota. *Immunity*, 49(2), 211–224. doi: 10.1016/j.immuni.2018.08.011
- Cabrera Macias, Y., Alonso Remedios, A., López González, E., & López Cabrera, E. (2017). ¿Nos enferman las preocupaciones? Una respuesta desde la Psiconeuroinmunoendocrinología. *MediSur*, 15(6), 839-852.
- Dix, C., & Wright, O. (2018). Bioavailability of a Novel Form of Microencapsulated Bovine Lactoferrin and Its Effect on Inflammatory Markers and the Gut Microbiome: A Pilot Study. *Nutrients*, 10(8), 1115. doi:10.3390/nu10081115.
- Farzi, A., Fröhlich, E. E., & Holzer, P. (2018). Gut Microbiota and the Neuroendocrine System. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 15(1), 5–22. doi:10.1007/s13311-017-0600-5

- Kawashima, R., Shimizu, T., To, M., Saruta, J., Jinbu, Y., Kusama, M., & Tsukinoki, K. (2014). Effects of stress on mouse β -defensin-3 expression in the upper digestive mucosa. *Yonsei medical journal*, *55*(2), 387–394. doi:10.3349/ymj.2014.55.2.387
- Lycke, N. Y., & Bemark, M. (2017). The regulation of gut mucosal IgA B-cell responses: recent developments. *Mucosal immunology*, *10*(6), 1361–1374. doi:10.1038/mi.2017.62
- McEwen B. S. (2017). Neurobiological and Systemic Effects of Chronic Stress. *Chronic stress (Thousand Oaks, Calif.)*, *1*, 2470547017692328. doi:10.1177/2470547017692328
- McManus, B., Korpela, R., O'Connor, P., Schellekens, H., Cryan, J. F., Cotter, P. D., & Nilaweera, K. N. (2015). Compared to casein, bovine lactoferrin reduces plasma leptin and corticosterone and affects hypothalamic gene expression without altering weight gain or fat mass in high fat diet fed C57/BL6J mice. *Nutrition & Metabolism*, *12*(1). doi: 10.1186/s12986-015-0049-7
- Pabst, O., & Slack, E. (2020). IgA and the intestinal microbiota: the importance of being specific. *Mucosal immunology*, *13*(1), 12–21. doi:10.1038/s41385-019-0227-4
- Peña-Juárez, M. C., Campos-Rodríguez, R., Godínez-Victoria, M., Cruz-Hernández, T. R., Reyna-Garfias, H., Barbosa-Cabrera, R. E., & Drago-Serrano, M. E. (2016). Effect of Bovine Lactoferrin Treatment Followed by Acute Stress on the IgA-Response in Small Intestine of BALB/c Mice. *Immunological Investigations*, *45*(7), 652–667. doi:10.1080/08820139.2016.1202959
- Pietrzak, B., Tomela, K., Olejnik-Schmidt, A., Mackiewicz, A., & Schmidt, M. (2020). Secretory IgA in Intestinal Mucosal Secretions as an Adaptive Barrier against Microbial Cells. *International journal of molecular sciences*, *21*(23), 9254. doi:10.3390/ijms21239254
- Rengarajan, S., Knoop, K. A., Rengarajan, A., Chai, J. N., Grajales-Reyes, J. G., Samineni, V. K., Russler-Germain, E. V., Ranganathan, P., Fasano, A., Sayuk, G. S., Gereau, R. W., 4th, Kau, A. L., Knights, D., Kashyap, P. C., Ciorba, M. A., Newberry, R. D., & Hsieh, C. S. (2020). A Potential Role for Stress-Induced

Microbial Alterations in IgA-Associated Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea. *Cell reports. Medicine*, 1(7), 100124. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100124

Reyna-Garfias, H., Miliar, A., Jarillo-Luna, A., Rivera-Aguilar, V., Pacheco-Yepez, J., Baeza, I., & Campos-Rodríguez, R. (2010). Repeated restraint stress increases IgA concentration in rat small intestine. *Brain, behavior, and immunity*, 24(1), 110–118. doi:10.1016/j.bbi.2009.09.005

Rosa, L., Cutone, A., Lepanto, M. S., Paesano, R., & Valenti, P. (2017). Lactoferrin: A Natural Glycoprotein Involved in Iron and Inflammatory Homeostasis. *International journal of molecular sciences*, 18(9), 1985. doi:10.3390/ijms18091985

Sfeir, R. M., Dubarry, M., Boyaka, P. N., Rautureau, M., & Tomé, D. (2004). The Mode of Oral Bovine Lactoferrin Administration Influences Mucosal and Systemic Immune Responses in Mice. *The Journal of Nutrition*, 134(2), 403–409. doi:10.1093/jn/134.2.403

Siqueiros-Cendón, T., Arévalo-Gallegos, S., Iglesias-Figueroa, B. F., García-Montoya, I. A., Salazar-Martínez, J., & Rascón-Cruz, Q. (2014). Immunomodulatory effects of lactoferrin. *Acta Pharmacologica Sinica*, 35(5), 557–566. doi:10.1038/aps.2013.200

Smith, S. M., & Vale, W. W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in clinical neuroscience*, 8(4), 383–395. doi:10.31887/DCNS.2006.8.4/ssmith

Takeuchi, T., Matsunaga, K., & Sugiyama, A. (2017). Antidepressant-like effect of milk-derived lactoferrin in the repeated forced-swim stress mouse model. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(11), 1803–1806. doi: 10.1292/jvms.17-0200

Vitlic, A., Lord, J. M., & Phillips, A. C. (2014). Stress, ageing and their influence on functional, cellular and molecular aspects of the immune system. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, 36(3), 9631. doi:10.1007/s11357-014-9631-6

Wu, H. J., & Wu, E. (2012). The role of gut microbiota in immune homeostasis and autoimmunity. *Gut Microbes*, 3(1), 4–14. doi:10.4161/gmic.19320

Wu, J., Chen, J., Wu, W., Shi, J., Zhong, Y., van Tol, E. A. F., Tang, Q., & Cai, W. (2014). Enteral supplementation of bovine lactoferrin improves gut barrier function in rats after massive bowel resection. *British Journal of Nutrition*, 112(4), 486–492. doi:10.1017/s000711451400107x

Zhao, X., Xu, X. X., Liu, Y., Xi, E. Z., An, J. J., Tabys, D., & Liu, N. (2019). The In Vitro Protective Role of Bovine Lactoferrin on Intestinal Epithelial Barrier. *Molecules*, 24(1), 148. doi:10.3390/molecules24010148