

INTRODUCCIÓN

Muchas bacterias ácido lácticas son productoras de exopolisacáridos (EPS), los cuales son polímeros de carbohidratos complejos que se liberan al medio. Estas moléculas han sido relacionadas con numerosos efectos beneficiosos para la salud, como la regulación de la microbiota intestinal, la prevención de distintas enfermedades, el rol inmunomodulador, entre otros. *Limosilactobacillus fermentum* Lf2 (Lf2) es una cepa autóctona capaz de producir EPS con propiedades funcionales interesantes demostradas tanto en modelos *in vivo* como *in vitro*. En el presente trabajo se propuso estudiar el rol preventivo de la cepa como de sus EPS en un modelo murino de colitis crónica inducida con TNBS (ácido sulfónico 2,4,6-trinitrobenceno).

OBJETIVOS

Evaluar el rol inmunomodulador de Lf2 y sus EPS en un modelo murino de colitis crónica, y su impacto en el metabolismo de la microbiota intestinal.

METODOLOGÍA

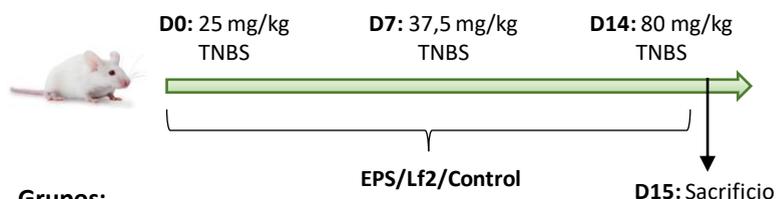
I. Obtención y purificación de EPS



La extracción de EPS utilizando la cepa Lf2 se realizó según Ale et al. (2019a). Brevemente, la cepa se desarrolló en caldo SDM optimizado, a pH constante en un fermentador Sartorius Biostat Aplus. Los EPS fueron precipitados con el agregado de 2 volúmenes de etanol frío, centrifugados, resuspendidos en agua bidestilada, dializados y liofilizados. La purificación se llevó a cabo según Ale et al. (2016).

II. Modelo de colitis crónica

Se utilizaron ratones BALB/c machos de 6 semanas de edad (8 ratones/grupo), el esquema experimental se muestra a continuación:



Grupos:

EPS (E): 0,6 mg/día/ratón resuspendido en lactosa 10% por *gavage* y TNBS intrarectal (3 dosis).

Lf2 (L): 10^8 UFC/día/ratón liofilizada en lactosa 10% por *gavage* y TNBS intrarectal (3 dosis).

Control (C): lactosa 10% por *gavage* y TNBS intrarectal (3 dosis).

Saludable (S): lactosa 10% por *gavage* y alcohol 50% intrarectal (3 aplicaciones a los días 0, 7 y 14).

Luego de cada tratamiento, los ratones fueron anestesiados y sacrificados por dislocación cervical para obtener muestras de intestino delgado (lavado con 5 mL de PBS frío con 1% de inhibidor de proteasas- Sigma Aldrich), intestino grueso y contenido de ciego.

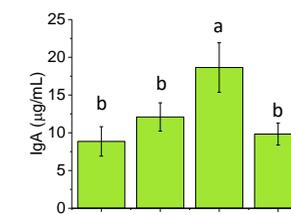
III. Determinación de IgA, citoquinas y ácidos grasos de cadena corta (SCFA)

A partir de los homogenatos de intestinos se midieron distintas citoquinas por ELISA (BD Biosciences) y se determinó IgA en fluido intestinal por el mismo método. Se determinaron los niveles de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) en el contenido de ciego por HPLC según Ale et al. (2019b).

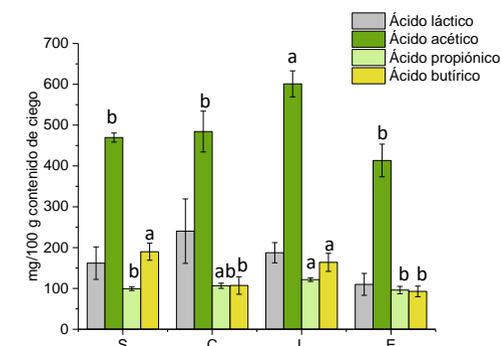
IV. Tratamiento estadístico

Se realizó ANOVA y el test post hoc de Duncan para detectar diferencias significativas entre grupos. Se aplicó Kruskal-Wallis cuando los criterios para ANOVA no se cumplían.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

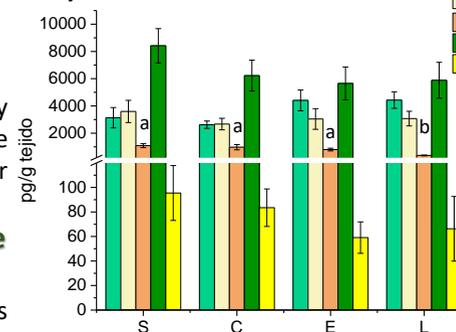


Niveles de IgA en fluido intestinal



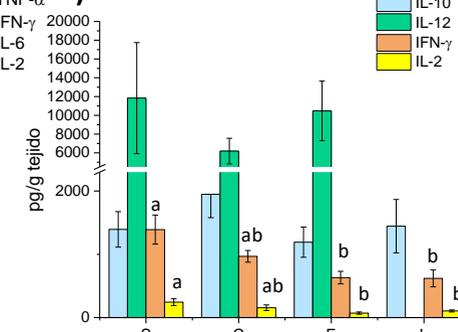
SCFA en contenido de ciego. Distintas letras señalan diferencias significativas entre tratamientos.

A)



Niveles de citoquinas en intestino delgado (A) y grueso (B). IL-10 dio debajo del límite de detección en intestino delgado. Distintas letras señalan diferencias significativas entre tratamientos para una determinada citoquina ($p < 0,05$).

B)



CONCLUSIÓN

A partir de estos resultados, se observa la potencialidad tanto de la cepa como de sus EPS para ser aplicados como ingredientes funcionales, y, al mismo tiempo, se puede sugerir una correlación entre los efectos de la cepa y su capacidad de producir estas moléculas