



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales



ANÁLISIS DE PERFILES FUNCIONALES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE PACIENTES CON TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR

Tesis individual

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Licenciada en **Microbiología**

Presenta:

Gabriela Montserrat Torres Fernández

Dirigido por:

Dr. Roberto Carlos Álvarez Martínez

Dr. Roberto Carlos Álvarez Martínez

Presidente

Firma

Dra. Tania Aguilar López

Secretaria

Firma

Dra. Mónica Figueroa Cabañas

Asesora

Firma

Dra. Etzel Garrido Espinosa

Asesora

Firma

Centro Universitario

Querétaro, Qro.

Marzo 2024

México



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Análisis de perfiles funcionales de la microbiota
intestinal de pacientes con trastorno depresivo mayor

por

Gabriela Montserrat Torres Fernández

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

Clave RI: CNLIN-243016

RESUMEN

El trastorno depresivo mayor (MDD, por sus siglas en inglés), es una de las enfermedades mentales más comunes en la actualidad y con una gran complejidad para su tratamiento debido a diversos factores que pueden favorecer al desarrollo y curso de este trastorno. Actualmente existe evidencia que el MDD está asociado con la microbiota intestinal a través del eje cerebro-intestino. Por ello, en esta tesis se buscó estudiar la composición y los perfiles funcionales o función metabólica de la microbiota intestinal en pacientes diagnosticados con MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos del grupo de inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (SSRI, por sus siglas en inglés) e inhibidores de recaptura de serotonina y noradrenalina (SNRI, por sus siglas en inglés), basándonos en las secuencias del gen 16S del ARN ribosomal del trabajo previamente publicado por Dong et al. (2022). Encontramos que la diversidad alfa disminuye significativamente en los pacientes con MDD antes del tratamiento en comparación con los controles saludables (CS) y que la diversidad beta no difiere significativamente entre estos grupos. En contraste con los pacientes con MDD antes y después del tratamiento, los cuales mostraron diferencias significativas en la diversidad beta pero no en la diversidad alfa. Descubrimos una asociación entre el género *Eggerthella* e *Intestinibacter* con el MDD antes del tratamiento, así como una mayor abundancia de bacterias patógenas. Sin embargo, estos resultados fueron atenuados por el uso de los antidepresivos, ya que en los pacientes con MDD después del tratamiento mostraron una asociación con los géneros *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Butyrivicoccus*, que son beneficiosas gracias a que poseen efectos antiinflamatorios, conduciendo a una restauración de la microbiota intestinal así como una disminución en los procesos patológicos que incrementan el riesgo de desarrollar o agravar el MDD.

Palabras clave: Trastorno depresivo mayor, microbiota intestinal, diversidad microbiana, perfiles funcionales, inflamación.

SUMMARY

Major depressive disorder (MDD) is one of the most common mental illnesses today, presenting significant complexity in its treatment due to various contributing factors. Current evidence suggests an association between MDD and gut microbiota through the gut-brain axis. Therefore, this thesis aimed to study the composition and functional profiles, or metabolic function, of the gut microbiota in patients diagnosed with MDD before and after treatment with antidepressants from the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) and serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors (SNRI) groups, based on the 16S ribosomal RNA gene sequences from the previously work published by Dong et al. (2022). We found a significant decrease in alpha diversity in MDD patients before treatment compared to healthy controls (CS), while beta diversity did not differ significantly between these groups. In contrast, MDD patients before and after the treatment showed significant differences in beta diversity but not in alpha diversity. We identified an association between the *Eggerthella* and *Intestinibacter* genera with MDD before treatment, as well as an increased abundance of pathogenic bacteria. However, these results were attenuated by the use of antidepressants, as MDD patients after treatment showed an association with the *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Butyricicoccus* genera, which are beneficial due to their anti-inflammatory effects, leading to a restoration of the gut microbiota and a reduction in pathological processes that increase the risk of developing or worsening MDD.

Keywords: Major depressive disorder, gut microbiota, bacterial diversity, functional profiles, inflammation.

A mis padres, Eustacio y Maribel.

AGRADECIMIENTOS

Gracias al Programa 20205007011001, del Fondo para el desarrollo del Conocimiento (FONDEC-UAQ-2022) por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto.

Gracias al Laboratorio de Biología Cuantitativa y de Sistemas Complejos, por facilitarme un lugar de trabajo y equipo de cómputo para la realización de mi tesis.

Personalmente agradezco a:

A mi director Dr. Roberto Álvarez, por su guía durante la realización de este trabajo así como apoyo durante la licenciatura.

A cada una de mis sinodales: Dra. Etzel Garrido, Dra. Tania Aguilar y la Dra. Monica Figueroa por su apoyo para la revisión de este trabajo.

A mis padres, por apoyarme incondicionalmente para que pudiera estudiar fuera de casa desde la preparatoria y motivarme para estar preparada para la vida.

A mis tíos, Patricia y Elias, por aceptarme en su casa y apoyarme en esta etapa académica.

A Jorge, por ser mi confidente, estar siempre para mi y apoyarme a seguir adelante.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	13
2. ANTECEDENTES	14
2.1. Trastorno depresivo mayor	14
2.1.1. Epidemiología	16
2.1.2. Curso y pronóstico	17
2.1.3. Tratamiento	18
2.1.4. Fisiopatología	20
2.1.4.1. Hipótesis de las monoaminas	21
2.1.4.2. Inflamación crónica	21
2.1.4.3. Disfunción del eje HPA	22
2.1.4.4. Disfunción del eje cerebro-intestino	23
2.2. Rol de la microbiota intestinal en el desarrollo de MDD	23
2.2.1. Microbiota intestinal y antidepresivos	25
2.2.2. Diversidad microbiana presente en MDD	26
2.2.3. Estrategias para la asociación de la microbiota con el MDD	27
2.2.3.1. DADA2: Inferencia de muestras de alta resolución	29
2.2.3.2. LEfSe: propuesta de biomarcadores taxonómicos de la microbiota	30
2.2.3.3. microeco: una herramienta para obtener perfiles funcionales	30
3. HIPÓTESIS	31
4. OBJETIVOS	31
4.1. Objetivo particular	31
4.2. Objetivos generales	31
5. METODOLOGÍA	32
5.1. Material de estudio	32
5.1.1. Base de datos	33
5.2. Procesamiento de datos con DADA2 y construcción de tabla ASV	33
5.3. Análisis del microbioma de pacientes con MDD y CS	34

5.4. Análisis de biomarcadores taxonómicos con LEfSe	35
5.5. Predicción de los perfiles funcionales de la microbiota intestinal	35
6. RESULTADOS	36
6.1. Descripción de metadatos	36
6.2. Calidad de las secuencias	36
6.3. Análisis de diversidad	37
6.4. Diferencias en la microbiota intestinal de CS y pacientes con MDD	42
6.5. Diferencias en la microbiota intestinal de pacientes con MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos	44
6.6. Identificación de biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal en MDD	46
6.7. Identificación de biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal en MDD con tratamiento de antidepresivos	47
6.8. Predicción de los perfiles funcionales de la microbiota intestinal en MDD	48
6.9. Predicción de los perfiles funcionales de la microbiota intestinal en MDD con tratamiento de antidepresivos	49
7. DISCUSIÓN	51
8. CONCLUSIONES	58
9. PERSPECTIVAS	59
10. REFERENCIAS	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico de MDD	15
Tabla 2. Rangos de cada síntoma para la escala de HAMD	16
Tabla 3. Mecanismos de acción de cada grupo de antidepresivos	19
Tabla 4. Diversidad microbiana asociada al MDD	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología utilizada	32
Figura 2. Perfiles de calidad de las secuencias	33
Figura 3. Curva de rarefacción de todas las muestras	37
Figura 4. Diversidad alfa de los CS y pacientes con MDD antes del tratamiento	38
Figura 5. Diversidad alfa de pacientes con MDD	39
Figura 6. Diversidad beta de CS y pacientes con MDD	40
Figura 7. Diversidad beta de pacientes con MDD	41
Figura 8. Diferencias en la abundancia relativa de las 10 familias más abundantes de CS y pacientes con MDD antes del tratamiento	42
Figura 9. Diferencias en la abundancia relativa a nivel de género de CS y pacientes con MDD antes del tratamiento	43
Figura 10. Diferencias en la abundancia relativa de las 10 familias más abundantes de los pacientes con MDD antes del tratamiento y después del tratamiento	44
Figura 11. Diferencias en la abundancia relativa a nivel de género de los pacientes con MDD antes del tratamiento y después del tratamiento	45
Figura 12. Análisis de LEfSe de los biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal de los CS y pacientes con MDD en la semana 0	46
Figura 13. Análisis de LEfSe de los biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal de los pacientes con MDD antes del tratamiento y después del tratamiento	47
Figura 14. Abundancia relativa de las categorías de vías metabólicas de la microbiota de pacientes con MDD y CS.	48
Figura 15. Abundancia relativa de las categorías de vías metabólicas de la microbiota de pacientes con MDD antes y después del tratamiento	50

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	5-hidroxitriptamina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
ARN	Ácido ribonucleico
ARNr	ARN ribosomal
ASV	Amplicon Sequence Variant/Variantes de secuencias de amplicón
CRF	Corticotropin-releasing factor/Factor liberador de corticotropina
CS	Control saludable
COVID-19	Enfermedad por coronavirus
DA	Dopamina
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders/Manual Diagnóstico y Estadístico de los trastornos mentales
FAPROTAX	Functional Annotation of Prokaryotic Taxa/Anotación funcional de taxones procariotas
GABA	Gamma-aminobutyric acid/Ácido gamma-aminobutírico

HAMD	Hamilton Depression Rating Scale/Escala de Depresión de Hamilton
HPA	Hypothalamic–pituitary–adrenal/Hipotalámico-pituitario-adrenal
LEfSe	Linear discriminant analysis Effect Size/Análisis discriminante lineal de tamaño de efecto
IL	Interleucina
MDD	Major depressive disorder/Trastorno depresivo mayor
NaSSA	Norepinephrine and specific serotonin antidepressant/ Antidepresivos serotoninérgicos y noradrenérgicos específicos
NE	Norepinefrina
NDRI	Norepinephrine and dopamine reuptake inhibitors/ Inhibidores de la recaptura de noradrenalina y dopamina
NMDS	Non-Metric Multidimensional Scaling/Escalamiento multidimensional no métrico
NRI	Selective norepinephrine reuptake inhibitor/ Inhibidores selectivos de recaptura de noradrenalina
OTU	Operational Taxonomic Unit/Unidad Taxonómica Operativa
RIMA	Reversible A monoamine oxidase inhibitor/Inhibidor reversible de la monoaminoxidasa A

SARI	Serotonin antagonist and reuptake inhibitors/ Antagonistas e inhibidores de la recaptación de serotonina
SNC	Sistema nervioso central
SNRI	Selective serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor/ Inhibidores de recaptura de serotonina y noradrenalina
SSRI	Selective serotonin reuptake inhibitor/ Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina
TCA	Tricyclic antidepressants/ Antidepresivos tricíclicos
TGF	Transforming Growth Factor/Factor de crecimiento transformante
TNF	Tumor Necrosis Factor/Factor de necrosis tumoral

1. INTRODUCCIÓN

Los trastornos mentales se caracterizan por una alteración en la cognición, comportamiento y regulación de las emociones del individuo, teniendo una prevalencia de 970 millones de casos a nivel mundial y tan solo con una tercera parte de los casos con acceso a una atención médica y tratamientos adecuados, por lo que representan un gran impacto en la salud pública global actualmente. Existen diferentes trastornos mentales como es el caso de la depresión, ansiedad, trastorno de bipolaridad, esquizofrenia, trastornos del neurodesarrollo, como el trastorno de déficit de atención, entre otros, siendo la depresión el trastorno mental más común (World Health Organization [WHO], 2022).

El trastorno depresivo mayor (MDD, por sus siglas en inglés), es una enfermedad caracterizada por un estado de ánimo bajo, anhedonia, sentimientos de culpa, falta de energía y concentración, y pensamientos suicidas (Bains & Abdijadid, 2022). La causa de este trastorno es multifactorial, en donde factores biológicos, psicológicos, genéticos y sociales participan en su desarrollo (Zalar et al., 2018), por lo que su etiopatogenia no está totalmente clara. Sin embargo, la búsqueda de las causas del desarrollo del MDD pueden contribuir en la prevención, innovación y mejoramiento de fármacos contra el MDD (Góralczyk-Bińkowska et al., 2022). En los últimos años se ha descubierto la relación entre el desarrollo del MDD y las alteraciones del eje cerebro-intestino.

El eje cerebro-intestino consiste en el intercambio de comunicación bidireccional entre el cerebro y el intestino, en el cual, gran parte de su modulación es gracias a la microbiota intestinal. La microbiota intestinal se caracteriza por abarcar una red de interrelaciones positivas y negativas que afectan la salud del huésped, debido a que los microorganismos presentes mantienen una estrecha relación con la mucosa intestinal, desempeñando funciones metabólicas e inmunológicas. Por lo que el intestino está colonizado por microorganismos específicos encargados de desempeñar esas funciones (Góralczyk-Bińkowska et al., 2022). Sin embargo, su composición no está exenta a sufrir alteraciones, los cuales pueden causar una pérdida de la homeostasis

intestinal, disminución de la secreción de sustancias neurológicamente activas y activar respuestas inflamatorias exacerbadas, promoviendo así la aparición de síntomas depresivos en el huésped (Liang et al., 2018). Por lo que generar estudios que busquen la asociación de la microbiota intestinal con la fisiopatología del MDD aportará información sobre el impacto de los mecanismos y productos del metabolismo microbiano que favorecen el desarrollo de MDD en el huésped, o el efecto contrario, actividad protectora que protegen al huésped de desarrollar este tipo de trastornos.

Las tecnologías ómicas, como es el caso de la metagenómica, nos han permitido identificar el ácido desoxirribonucleico (ADN) aislado de muestras humanas contribuyendo en el aumento del conocimiento de la diversidad de la microbiota (Socala et al., 2021), permitiendo poder responder inquietudes como ¿qué microorganismos están presentes en la microbiota?, al compararlos con diferentes muestras ¿existen diferencias en la diversidad alfa y beta?, ¿existen biomarcadores taxonómicos en cada grupo de muestras?, incluso la predicción de perfiles funcionales de microorganismos presentes en la microbiota intestinal del huésped.

En este trabajo de tesis se buscó identificar y entender la microbiota intestinal presente en pacientes con MDD con el fin de relacionar la microbiota intestinal con el desarrollo del MDD y así contribuir en la comprensión de la enfermedad desde el punto de vista de la microbiota intestinal.

2. ANTECEDENTES

2.1. Trastorno depresivo mayor

El trastorno depresivo mayor (MDD), es una condición médica que se manifiesta en los individuos a través de alteraciones significativas en su estado de ánimo (estado de ánimo bajo o deprimido), típicamente caracterizado por una disminución en el interés de actividades que antes resultaban placenteras (anhedonia), sentimiento de culpa, además de cambios en funciones cognitivas y psicomotoras, como falta de energía,

concentración, trastornos del sueño, cambios en su apetito y pensamientos suicidas (Bains & Abdijadid, 2022, Fava & Kendler, 2000).

Para el diagnóstico clínico del MDD, se siguen criterios específicos con el objetivo de identificar y evaluar la severidad de este trastorno entre pacientes. Entre las herramientas diagnósticas más empleadas se encuentran los criterios del Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM) y la Escala de Depresión de Hamilton (HAMD). Para el DSM, el paciente debe de presentar 5 de los 9 síntomas descritos en la **Tabla 1** durante un periodo mínimo de dos semanas, de los cuales al menos uno debe de ser el estado de ánimo bajo o la anhedonia (American Psychiatric Association, 2018). Es necesario descartar que los episodios depresivos no sean atribuibles a una sustancia o por un trastorno psicótico (Uher et al., 2013).

Tabla 1. Criterios para el diagnóstico de MDD¹.

Síntomas	Frecuencia
Estado de ánimo deprimido	Casi todos los días
Pérdida de interés o placer (anhedonia)	Casi todos los días
Cambio de peso o apetito	5% de cambio del peso en 1 mes
Insomnio o hipersomnia	Casi todos los días
Retraso psicomotor o agitación psicomotora	Casi todos los días
Pérdida de energía o fatiga	Casi todos los días
Inutilidad o culpa	Casi todos los días
Deterioro de la concentración o indecisión	Casi todos los días
Pensamientos o intento de suicidio	Pensamientos recurrentes y cualquier intento

¹ Los criterios están basados en American Psychiatric Association (2018).

Por otra parte, la Escala de HAMD (Hamilton, 1960), evalúa cuantitativamente la gravedad de los síntomas de depresión. Esta escala se compone actualmente de 17 ítems o variables relacionadas con los síntomas depresivos, cada una con un rango

específico (**Tabla 2**). La suma de estos valores individuales proporcionan una puntuación total que refleja la gravedad del trastorno depresivo.

Las puntuaciones en la escala HAMD se interpretan de la siguiente manera: un rango de 0-7 implica la ausencia de depresión, una puntuación de 8-16 implica una depresión ligera o leve, 18-23 depresión moderada y una puntuación de 24 a 52 refleja una depresión severa o grave. Esta cuantificación es particularmente valiosa para los profesionales de la salud, ya que permite monitorear de manera efectiva los cambios en el MDD a lo largo del tiempo y en respuesta a tratamientos específicos.

Tabla 2. Rangos de cada síntoma para la escala de HAMD¹.

Ítem	Rango	Síntoma	Ítem	Rango	Síntoma
1	0-4	Estado de ánimo depresivo	10	0-4	Ansiedad psíquica
2	0-4	Culpa	11	0-4	Ansiedad somática
3	0-4	Pensamientos suicidas	12	0-2	Síntomas gastrointestinales
4	0-2	Insomnio: primeras horas de la noche	13	0-2	Síntomas somáticos generales
5	0-2	Insomnio: en medio de la noche	14	0-2	Trastornos sexuales
6	0-2	Insomnio: tempranas horas de la mañana	15	0-4	Hipocondriasis
7	0-4	Pérdida de intereses y trabajo	16	0-2	Pérdida de conocimiento
8	0-4	Retraso psicomotor	17	0-2	Pérdida de peso
9	0-2	Agitación psicomotora			

¹ Basado en Hamilton (1960).

2.1.1. Epidemiología

El MDD ha despertado un gran interés en los últimos años debido a la importancia que tiene en la salud pública, debido a que ejerce una gran carga socioeconómica y clínica (Fontana et al., 2020). De tal forma que en 2008, la World Health Organization clasificó

al MDD como la tercera causa de carga de enfermedad a nivel mundial, estimando que esta podría ocupar el primer lugar para el año 2030 (WHO, 2008). Incluso, se estima una prevalencia de 280 millones de personas en todo el mundo (WHO, 2021a) y cerca de 700 000 muertes por suicidio al año (WHO, 2021b).

En México, por ejemplo, se estimó en 2021 que alrededor de 3.6 millones de adultos padecían de depresión, con un 1% de los casos clasificados como severos (Servicios de Atención Psiquiátrica, 2022). Además, se observó un incremento significativo en la prevalencia del MDD en comparación con las cifras reportadas antes del 2019. Este aumento se atribuye en cierta medida a la pandemia de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) en México (Secretaría de Salud, 2023). De manera similar, a nivel mundial la prevalencia del MDD se ha intensificado, notablemente debido a la pandemia. Antes de la emergencia sanitaria, se estimaba que la prevalencia global del MDD era de 193 millones casos; sin embargo después de la pandemia, este número ascendió a 246 millones, lo que representó un aumento de 53 millones de casos tan solo en 2020 (Santomauro et al., 2021).

2.1.2. Curso y pronóstico

El MDD se caracteriza por un inicio y curso impredecible y variable. En algunos pacientes, la depresión comienza de manera gradual, mientras que en otros, el inicio es más abrupto. Además, en la mayoría de los casos, el MDD se presenta por episodios, por lo que los pacientes se sienten bien entre los episodios depresivos agudos. Sin embargo, este patrón no siempre es igual en todos los pacientes con MDD. La duración, frecuencia y patrón de los episodios depresivos difieren ampliamente, lo que añade complejidad a la enfermedad (Malhi & Mann, 2018).

El MDD se considera, en muchos casos, una condición recurrente a lo largo de toda la vida. Se observa que ciertos casos de recuperación tienden a manifestarse después de un período de tratamiento que abarca alrededor de 12 meses, durante el cual los episodios depresivos suelen persistir entre 3 y 6 meses (Malhi & Mann, 2018). No obstante, la recuperación a largo plazo, que se extiende de 2 a 6 años, es menos

común. Lamentablemente, con el paso del tiempo, la tasa de recuperación prolongada disminuye significativamente, llegando solo al 17%. Estos hallazgos indican que la mayoría de los pacientes con MDD experimentan un trastorno incapacitante y crónico (Verduijn et al., 2017).

Uno de los mayores desafíos en el pronóstico del MDD es la resistencia a los tratamientos farmacológicos. Se estima que aproximadamente el 30% de los pacientes no responden favorablemente a las intervenciones farmacológicas (Dong et al., 2022). Esta resistencia se asocia con una mayor gravedad y recurrencia de la enfermedad, lo que se traduce en un incremento de las deficiencias funcionales. Además, la resistencia al tratamiento no solo incrementa el costo económico, sino que también, exacerba las tendencias suicidas y contribuye al estigma social asociado (Chen, 2019).

2.1.3. Tratamiento

Actualmente existen diversas estrategias para el tratamiento del MDD, entre ellas destacan el tratamiento farmacológico (antidepresivos), la psicoterapia y fisioterapia (como es el caso de la terapia electroconvulsiva y la estimulación magnética transcraneal). La psicoterapia se recomienda en casos de depresión leve y, en casos de depresión moderada a mayor, la psicoterapia acompañada de la prescripción de antidepresivos (Wang et al., 2019). De igual manera la terapia electroconvulsiva y la estimulación magnética transcraneal se ha encontrado que es más eficaz que otro tipo de tratamiento farmacológico para casos de MDD más severos (Pagnin et al., 2004, Shao et al., 2022, Wang et al., 2019).

En la categoría de los antidepresivos, existen dos clasificaciones: los de primera y segunda generación. La primera generación de antidepresivos incluye a los inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (SSRI, por sus siglas en inglés), inhibidores de recaptura de serotonina y noradrenalina (SNRI, por sus siglas en inglés), inhibidores de la recaptura de noradrenalina y dopamina (NDRI, por sus siglas en inglés), antidepresivos serotoninérgicos y noradrenérgicos específicos (NaSSA, por sus siglas en inglés), inhibidores selectivos de recaptura de noradrenalina (NRI, por sus siglas en

inglés) e inhibidores reversibles de la monoaminoxidasa A (RIMA, por sus siglas en inglés). Por otro lado, los antidepresivos de segunda generación son los inhibidores de la recaptación de serotonina y antagonista de los receptores de serotonina (SARI), y a los antidepresivos tricíclicos (TCA, por sus siglas en inglés). El mecanismo de acción así como los antidepresivos comúnmente usados en la práctica clínica de cada grupo se encuentran listados en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Mecanismos de acción de cada grupo de antidepresivos.

Grupo	Mecanismo de acción
SSRI	Inhiben la recaptación presináptica de la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) mediante el bloqueo de sus transportadores, aumentando así su disponibilidad para actuar en receptores postsinápticos (Edinoff et al., 2021 & Preskorn et al., 2004).
SNRI	Tienen el mismo efecto de los SSRI, además de bloquear el transportador de noradrenalina (NE), incrementando las concentraciones sinápticas de la 5-HT y NE así como la dopamina (DA) a nivel de la corteza prefrontal (Shelton, 2018).
NDRI	Inhiben los transportadores de NE y DA, incrementando sus concentraciones sinápticas (Kintscher, 2012).
NaSSA	Actúan como antagonistas de los autorreceptores y heteroreceptores alfa 2- noradrenérgicos, y bloquea ciertos receptores de la 5-HT como el 5-hidroxitriptamina 2 (5-HT ₂) y 5-HT ₃ , lo que causa que haya una mejor neurotransmisión mediada por 5-HT ₁ (Watanabe et al., 2011).
NRI	Se une al transportador de NE, bloqueando así la recaptación de NE extracelular en las terminales y provocando una mayor disponibilidad sináptica (Hajós et al., 2006 & Page, 2006).
RIMA	Inhiben la descomposición de la 5-HT, NE y la DA, debido a que inhiben la acción de la enzima monoamino oxidasa que elimina a estos tres principales neurotransmisores (Fowler et al., 2010).
SARI	Ejerce una acción antagonista sobre los receptores 5-HT _{2A} de la 5-HT e inhibe la recaptura de la 5-HT. (Alcántara-López et al., 2009).
TCA	Actúan en diferentes vías de neurotransmisores, bloqueando la recaptación de 5-HT y NE en las terminales presinápticas, provocando mayor concentración en el espacio sináptico. También actúan como antagonistas competitivos de los receptores colinérgicos alfa, muscarínicos e histaminérgicos postsinápticos (Moraczewski & Aedma, 2022).

2.1.4. Fisiopatología

La causa del MDD es multifactorial, ya que factores biológicos, psicológicos, genéticos y el contexto en el que la persona se desenvuelve, pueden influenciar en el desarrollo de este trastorno (Zalar et al., 2018, Bains & Abdijadid, 2022). Con respecto a esto, se cree que factores sociales como el nivel socioeconómico influyen en el desarrollo de MDD. Sin embargo, no se han encontrado diferencias significativas en la prevalencia entre niveles socioeconómicos y casos de MDD (Bains & Abdijadid, 2022), lo que es respaldado por un estudio realizado por Vos et al. (2015), encontrando una incidencia de depresión de 5.5% en países de ingresos altos y 5.9% en países de ingresos bajos y medianos. Esto nos podría indicar que los factores sociales y culturales no tienen un papel crucial en el desarrollo de MDD, como el caso de factores biológicos y genéticos, que parecieran impulsar la aparición de este trastorno. Factores biológicos como la edad y sexo parecieran ser factores que incrementan la susceptibilidad al MDD, por ejemplo, se ha observado que el primer episodio de MDD surge en promedio a los 25 años (Malhi & Mann, 2018) y que la mayoría de los casos se observan en mujeres, con casi dos veces más casos que en hombres, lo cual puede estar relacionado con diferencias sexuales en la susceptibilidad psicológica y biológica (Malhi & Mann, 2018, Kuehner, 2017).

Para poder entender su fisiopatología, es importante destacar que el MDD no es solo un trastorno mental, sino también una enfermedad fisiológica. En el MDD surgen cambios cerebrales a nivel de neurotransmisores, se observa un deterioro de la neurogénesis, presentándose anomalías en los circuitos neuronales, así como una disminución de la neuroplasticidad, por lo que se han estudiado algunos aspectos neurológicos para intentar explicar la fisiopatología del MDD (Liang et al., 2018). En este sentido, se destacan algunas hipótesis como: la de las monoaminas, la inflamación crónica, la disfunción del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) y la disfunción del eje cerebro-intestino. En las siguientes secciones exploraremos estas hipótesis.

2.1.4.1. Hipótesis de las monoaminas

La hipótesis de las monoaminas explica que los neurotransmisores monoamínicos como la serotonina (5-hidroxitriptamina [5-HT]), la noradrenalina (NE) y la dopamina (DA) tienen un papel fundamental en la patogenia de este trastorno, debido a que su disminución puede desencadenar el MDD. Esta hipótesis es respaldada por el funcionamiento de cierto tipo de antidepresivos, como el caso de los SSRI, TCA y RIMA, los cuales mejoran la neurotransmisión de las monoaminas corrigiendo así sus deficiencias y por lo tanto, mejorando los síntomas de ciertos pacientes con MDD (Lee et al., 2010, Malhi & Mann, 2018, Willner et al., 2013). La validez de esta teoría se ve comprometida debido a que estos antidepresivos no resultan efectivos en todos los casos de MDD, además de provocar efectos secundarios no deseados en los pacientes que los utilizan (Lee et al., 2010).

2.1.4.2. Inflamación crónica

Se ha encontrado una relación entre el proceso de la inflamación y el desarrollo-mantenimiento de la depresión (Bollen et al., 2017), debido a que una subpoblación de pacientes deprimidos presentan inflamación crónica así como una desregulación inmunológica. Esta hipótesis postula que en MDD ciertas citocinas proinflamatorias, como Interleucina-6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α , por sus siglas en inglés) aumentan, mientras que citocinas antiinflamatorias como la IL-10 y el factor de crecimiento transformante-beta (TGF- β , por sus siglas en inglés) disminuyen, provocando una respuesta inmune inflamatoria (Liang et al., 2018). El aumento de las concentraciones de las citocinas proinflamatorias están relacionadas con la función cerebral y la cognición ya que actúan directamente sobre las neuronas y otras células como los astrocitos y microglía (Malhi & Mann, 2018). Además, las citocinas proinflamatorias aumentan la permeabilidad de la barrera hematoencefálica así como la reducción de la síntesis de 5-HT y la perturbación de los sistemas glutamatérgicos. Se ha observado que la neuroinflamación afecta al sistema nervioso central (SNC) debido al exceso de citocinas proinflamatorias liberadas por la microglía. Este fenómeno desencadena diversas alteraciones conductuales, entre ellas el MDD.

Es importante señalar que la inducción de estas citocinas está relacionada con factores como el estrés psicológico, enfermedades o infecciones (Liang et al., 2018).

2.1.4.3. Disfunción del eje HPA

El estrés psicológico y fisiológico activan el eje HPA, estimulando la liberación del factor liberador de corticotropina (CRF, por sus siglas en inglés) y de la vasopresina por parte del hipotálamo, estas dos hormonas inducen a la glándula pituitaria a secretar la hormona adrenocorticotrópica y ésta provoca un aumento en los niveles circulatorios de glucocorticoides, lo que inhibe la secreción de CRF y los niveles de vasopresina en el hipotálamo, formando así una retroalimentación negativa. En pacientes con MDD, se ha observado que más del 50% presentan disfunción en la retroalimentación negativa del eje HPA (Liang et al., 2018). Incluso se ha observado que existe un aumento en los niveles de cortisol en plasma en pacientes con MDD, provocado por una liberación excesiva de cortisol causada por estrés y alteración de la inhibición de la retroalimentación mediada por el receptor de glucocorticoides (Malhi & Mann, 2018). Este receptor juega un papel importante en la función del eje HPA durante el MDD debido a que el exceso de glucocorticoides reduce la sensibilidad de su receptor y se ha visto que ciertos antidepresivos aumentan su expresión mejorando así su función y la retroalimentación negativa de este receptor (Liang et al., 2018).

Cuando existe una disfunción del eje HPA hay una baja en la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro, el cual es un regulador de la neurogénesis y cuando éste disminuye surgen síntomas depresivos en los pacientes además de un aumento en la apoptosis neuronal. También hay una inhibición de la síntesis de 5-HT, de la expresión del receptor de glutamato y perturbación de la neuroplasticidad (Liang et al., 2018). Además se ha observado que los efectos que conlleva la disfunción de este eje se refleja con una deficiencia en la recuperación del paciente con MDD (Malhi & Mann, 2018). Por lo que este eje se cataloga como uno de los mecanismos más importantes detrás del MDD.

2.1.4.4. Disfunción del eje cerebro-intestino

El eje cerebro-intestino es el eje bidireccional de comunicación entre el cerebro y el intestino. Esta conexión se da a través de varias vías, tales como los nervios, el eje HPA y el sistema inmunitario. Además este eje está influenciado por la microbiota intestinal debido a la gran cantidad de microorganismos (bacterias, arqueas, hongos, virus, etc.) que se encuentran en el intestino y que se relacionan con el metabolismo, sistema inmunitario y transmisión de señales del organismo (Liang et al., 2018). Se han descrito tres mecanismos principales mediante los cuales funciona el eje microbiota-cerebro-intestino. El primero de ellos se relaciona con el sistema nervioso entérico y el SNC. Ambos desempeñan funciones para regular la actividad intestinal y la microbiota. Esta última, junto con las células intestinales, ejerce influencia sobre las redes neuronales de los sistemas nerviosos, liberando neurotransmisores. El segundo mecanismo involucra el sistema inmunitario, el cual se relaciona con la microbiota debido a la producción de metabolitos microbianos y citocinas inflamatorias, la cual influye a que exista una respuesta inmune adecuada y regulada en presencia de una microbiota saludable. Por otra parte cuando existe una disbiosis microbiana, ésta genera una respuesta inmune exacerbada y daño a la barrera intestinal que eventualmente puede conducir a una translocación bacteriana y a una endotoxemia, afectando negativamente al cerebro. Por último, el tercer mecanismo es el impacto que tienen varios elementos como hormonas, metabolitos o neurotransmisores que serán enviados al torrente sanguíneo de manera sistémica (Ortega et al., 2022). En pacientes con MDD se ha observado que a menudo tienen disfunción de este eje, reflejado con trastornos de apetito, metabólicos, gastrointestinales y anomalías en la microbiota intestinal. Esta desregulación del eje se puede ver influenciada por estrés psicológico o enfermedades (Liang et al., 2018).

2.2. Rol de la microbiota intestinal en el desarrollo de MDD

La microbiota intestinal mantiene una estrecha relación con la mucosa intestinal, ya que tiene una serie de funciones metabólicas, inmunológicas y de protección intestinal vitales para favorecer la salud del individuo (Jandhyala, 2015). Dentro de sus funciones, la microbiota intestinal puede desempeñar un papel en el sistema nervioso

(Jiang et al., 2015). Esta participación la lleva a cabo mediante eje microbiota-cerebro-intestino, el cual está compuesto por el SNC, el sistema neuroendocrino y neuroinmune, el sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático), el sistema nervioso entérico y la microbiota. Estas conexiones se realizan gracias a la secreción de sustancias neurológicamente activas, como el ácido gamma-aminobutírico (GABA, por sus siglas en inglés), 5-HT, NE y DA, así como metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y el ácido betahidroxibutírico. Estas sustancias están influenciadas por los cambios en la composición de la microbiota intestinal. Una disbiosis puede alterar su producción y desencadenar MDD. GABA es un transmisor inhibitor clave en el SCN, el cual puede ser secretado por ciertas cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, una disminución en su abundancia podría desencadenar una modificación en sus vías de transmisión, lo que desarrollaría un trastorno de ansiedad y MDD. Por otro lado, el 90% de la 5-HT es sintetizada en el intestino, por lo que la microbiota es de suma importancia para su producción así como la asignación de metabolitos relevantes para su síntesis como el caso del triptófano, que es su precursor (Zalar et al., 2018). Bacterias como *Corynebacterium* spp., *Escherichia coli* y *Streptococcus* spp pueden sintetizar 5-HT, así como esporas formadoras de bacterias como el género de *Clostridium* (Yano et al. 2015). Indirectamente *Lactobacillus brevis* promueve la liberación de 5-HT al influenciar el número y función de las células enterocromafines (Zalar et al., 2018). De igual manera en el intestino se establece el 50% de la DA y especies como *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, entre otras, contribuyen en su liberación (Zalar et al., 2018). Como se mencionó anteriormente, la disminución de estos neurotransmisores conlleva a la aparición de síntomas depresivos (Liang et al., 2018).

Una microbiota alterada o disbiosis puede ser resultado del estrés crónico, la cual puede inducir una disfunción del eje microbiota-cerebro-intestino, una disminución de 5-HT en el hipocampo, así como la reducción de ácido ribonucleico (ARN) mensajero del factor neurotrófico derivado del cerebro, el cual es un regulador de la neurogénesis y se ha visto que su disminución conlleva a la aparición de síntomas depresivos y un

aumento de la apoptosis neuronal. Por otra parte, también conlleva a los aumentos de la hormona del estrés en plasma y a la disminución de la IL-10 en circulación (Liang et al., 2018). Además de productos derivados de los microorganismos como son productos finales de la fermentación o componentes de la pared celular pueden afectar directamente el cerebro debido a que pueden atravesar la barrera intestinal y viajar por el torrente sanguíneo (Zalar et al., 2018). Por lo que la regulación de la microbiota intestinal mejora ciertas anomalías del cerebro, como el MDD. Esto se demuestra en pacientes con MDD que muestran patrones alterados de la microbiota intestinal en comparación con personas sin MDD (Barandouzi et al., 2020) y en modelos animales donde la transferencia de microbiota intestinal de pacientes con MDD a ratas libres de gérmenes, mostró comportamientos característicos de la depresión (Kelly et al., 2016). Caso contrario de la administración de probióticos en pacientes con MDD, en la que se encontró mejoras en el estado de ánimo, por lo que se considera evidencia para utilizarlo como un posible tratamiento para MDD (Jiang et al., 2015, Zalar et al., 2018). Esto pareciera indicar que la disbiosis está relacionada con el desarrollo de MDD, por lo que la regulación de la microbiota intestinal podría ser clave para su tratamiento.

2.2.1. Microbiota intestinal y antidepresivos

Hasta hace poco se desconocía si los antidepresivos podrían influir en la microbiota intestinal y si la composición de esta última podría afectar la efectividad de los antidepresivos. Ahora se sabe que ciertos antidepresivos pierden su eficacia en presencia de disbiosis (Manchia et al., 2020). Además, se ha observado que algunos antidepresivos poseen un efecto bactericida (Ait Chait et al., 2020, Lukić et al., 2019).

Entre estos antidepresivos bactericidas, se ha identificado que los antidepresivos de tipo SSRI, como la fluoxetina y escitalopram, así como del tipo SNRI como la venlafaxina y duloxetina reducen la diversidad de la microbiota intestinal en ratones, particularmente los géneros *Ruminococcus* y *Adlercreutzia* (Lukić et al., 2019). De igual manera, la desipramina (del tipo TCA) muestra actividad bactericida y reductora del crecimiento de bacterias como *Akkermansia muciniphila* y *Escherichia coli*. Además, el s-citalopram (SSRI) y la fenelzina (RIMA) tienen un efecto bactericida contra

Eubacterium rectale y *Faecalibacterium prausnitzii* cuando se prueban *in vitro* (Ait Chait et al., 2020). Aunque aún no se comprende completamente cómo los antidepresivos ejercen este efecto antimicrobiano, se ha propuesto que los SSRI podrían inhibir el flujo de salida en las paredes celulares de las bacterias, mientras que los TCA podrían reducir la actividad de la enzima ADN girasa (Ait Chait et al., 2020).

A pesar de lo mencionado anteriormente, el efecto antimicrobiano que poseen los antidepresivos podría utilizarse como un mecanismo para aliviar la disbiosis intestinal en pacientes con MDD al facilitar los cambios en la abundancia intestinal al seleccionar ciertas especies bacterianas y promover su crecimiento, generando un cambio en la composición de las comunidades en la microbiota intestinal (Macedo et al., 2017).

2.2.2. Diversidad microbiana presente en MDD

Existen diversos estudios que reportan la diversidad de la microbiota intestinal en pacientes con MDD. Sin embargo, estos resultados son variables dependiendo el estudio posiblemente a la diferencia en la metodología y de la población estudiada. Sin embargo, se han logrado realizar asociaciones de familias y géneros bacterianos mayormente encontrados en pacientes con MDD, como las que se enlistan en la **Tabla 4**.

A pesar de la variabilidad de los resultados, los estudios de diversidad microbiana nos generan información importante sobre qué poblaciones microbianas están asociadas con el MDD, así como aquellas que están en personas sanas, funcionando como una posible estrategia para proponer probióticos apropiados para un posible tratamiento (Barandouzi et al., 2020), incluso de bacterias que poseen cierto tipo de protección contra la depresión como el caso de *Faecalibacterium* (Jiang et al., 2015), ya que está relacionado con la producción del butirato, que es un AGCC que es clave para el mantenimiento de la mucosa intestinal y reducción de la inflamación (Nikolova et al., 2021, Ye et al., 2021). Sin embargo, para tener mayor información sobre la microbiota intestinal y el MDD se debe de ir más allá de los estudios de diversidad microbiana, es decir, realizar otro tipo de estudios que involucren áreas de la metagenómica y/o

metabolómica para poder encontrar relaciones temporales y causales entre la microbiota intestinal y el MDD (Jiang et al., 2015).

Tabla 4. Diversidad microbiana asociada al MDD.

	Mayor abundancia en MDD	Menor abundancia en MDD
Familia	Actinomycinae ¹ , Coriobacterineae ¹ , Clostridiales incertae sedis XI ¹ , Porphyromonadaceae ¹ , Clostridiaceae ¹ , Lactobacillaceae ¹ , Streptococcaceae ¹ , Eubacteriaceae ¹ , Thermoanaerobacteriaceae ¹ , Fusobacteriaceae ¹ , Nocardiaceae ¹ , Streptomycetaceae ¹ , Prevotellaceae ³ , Ruminococcaceae ⁴	Veillonellaceae ¹⁻⁵ , Prevotellaceae ¹⁻⁵ , Bacteroidaceae ¹ , Sutterellaceae ¹⁻²⁻⁵ , Oscillospiraceae ¹ , Marniabilaceae ¹ , Chitinophagaceae ¹ , Christensenellaceae ²
Género	<i>Oscillibacter</i> ¹ , <i>Blautia</i> ¹ , <i>Holdemania</i> ¹ , <i>Clostridium XIX</i> ¹ , <i>Anaerostipes</i> ¹ , <i>Lachnospiraceae incertae sedis</i> ¹ , <i>Anaerofilum</i> ¹ , <i>Streptococcus</i> ¹ , <i>Gelria</i> ¹ , <i>Turcibacter</i> ¹ , <i>Parabacteroides</i> ¹⁻² , <i>Eggerthella</i> ¹⁻⁴ , <i>Klebsiella</i> ¹ , <i>Streptococcus</i> ¹⁻² , <i>Paraprevotella</i> ¹⁻⁵ , <i>Veillonella</i> ¹ , <i>Clostridium IV</i> ¹ , <i>Erysipelotrichaceae incertae sedis</i> ¹ , <i>Eubacterium</i> ¹⁻⁴ , <i>Parvimonas</i> ¹ , <i>Desulfovibrio</i> ¹ , <i>Parasutterella</i> ¹ , <i>Actinomyces</i> ¹ , <i>Asaccharobacter</i> ¹ , <i>Atopobium</i> ¹ , <i>Olsenella</i> ¹ , <i>Sellimonas</i> ⁴ , <i>Ruminococcaceae</i> ⁴ , <i>Lachnoclostridium</i> ⁴ , <i>Hungatella</i> ⁴ , <i>Subdoligranulum</i> ⁴ , <i>Prevotella</i> ³ , <i>Alistipes</i> ² , <i>Bacteroidetes</i> ² , <i>Bifidobacterium</i> ² , <i>Flavonifractor</i> ²	<i>Coprococcus</i> ¹⁻²⁻⁴ , <i>Lactobacillus</i> ¹⁻³ , <i>Escherichia</i> ¹⁻⁴ , <i>Clostridium XIVa</i> ¹ , <i>Dialister</i> ¹ , <i>Howardella</i> ¹ , <i>Pyramidobacter</i> ¹ , <i>Sutterella</i> ¹⁻² , <i>Faecalibacterium</i> ³⁻⁵ , <i>Ruminococcus</i> ³⁻⁵ , <i>Christensenella</i> ² , <i>Eubacterium</i> ² , <i>Faecalibacterium</i> ² , <i>Roseburia</i> ²

Recopilado de: ¹Barandouzi et al. (2020)., ²Knuesel & Mohajeri (2022)., ³Liang et al. (2018)., ⁴Radjabzadeh et al. (2022)., ⁵Sanada et al. (2020).

2.2.3. Estrategias para la asociación de la microbiota con el MDD

La asociación de la microbiota con la fisiopatología del MDD es de suma importancia, debido a que nos proporciona información sobre cuál es el impacto que están teniendo las comunidades bacterianas dentro del huésped. Actualmente existen pocos estudios

que revelen la asociación entre la microbiota intestinal y los síntomas depresivos en personas con MDD utilizando herramientas bioinformáticas. Radjabzadeh et al. (2022) buscó determinar los vínculos causales entre la microbiota y el MDD mediante un análisis de aleatorización mendeliana, en el que encontraron un vínculo causal entre MDD y bacterias del género *Hungatella*, el cual se encuentra en mayor abundancia en pacientes con MDD (**Tabla 4**), y está relacionado con enfermedades neurológicas debido a la producción de una molécula precursora del N-óxido de trimetilamina. Este tipo de estudios generan información y bases para entender que los mecanismos y productos del metabolismo de la microbiota intestinal pueden estar relacionados con la etiología del MDD, además de tener la ventaja que no necesariamente se tienen estudiar exclusivamente la diversidad microbiana ya que las funciones microbianas se conservan en todos los grupos taxonómicos (Cheung et al., 2019). La mayoría de estos estudios se basan en la secuenciación del gen 16S del ARNr, debido a que representa una forma sencilla y económica en comparación de la secuenciación de genomas completos (Pérez et al., 2020).

A través de los años y con el avance de las tecnologías ómicas, tales como la secuenciación del gen 16S del ARNr, permitió grandes avances en la visión global y sistemática de la biología de las comunidades microbianas, debido a que ayudó a identificar y clasificar bacterias a nivel taxonómico, brindando información valiosa sobre la diversidad microbiana en diversos ambientes (Yoon et al., 2017). Por ende, la secuenciación del gen 16S del ARNr nos ha facilitado responder ciertas interrogantes dentro de la investigación de la microbiota intestinal en enfermedades, tales como: ¿Qué diversidad microbiana encontramos? ¿Existen vínculos causales entre la microbiota y la enfermedad? ¿Qué efectos está teniendo la microbiota sobre el huésped que puede influir en el desarrollo de la enfermedad?. Para la respuesta de estas preguntas, las herramientas bioinformáticas han sido fundamentales, como es el caso de la comparación bioinformática de genes de ARNr 16S con bases de datos de referencia, tales como Silva v.138.1 (McLaren et al., 2021), que proporcionan una forma objetiva y confiable para clasificar las procariontas. Para este tipo de análisis de identificación de diversidad a través de las secuencias del gen 16S del ARNr se han

utilizado herramientas bioinformáticas tales como DADA2 (Callahan et al., 2016). Por otra parte, cuando se buscan encontrar asociaciones entre un padecimiento y un grupo bacteriano en específico, se puede realizar la búsqueda de biomarcadores taxonómicos de la microbiota, ya que éstos al tener una abundancia diferencial significativa tienen una alta probabilidad de vincularse con el padecimiento (Segata et al., 2011). Y cuando se busca identificar las funciones metabólicas de la comunidad microbiana que tienen sobre el huésped, se pueden utilizar análisis de perfiles funcionales que buscan comparar la taxonomía asignada contra las funciones metabólicas (Liu et al., 2022). A continuación explicaremos brevemente cómo funcionan estas herramientas.

2.2.3.1 DADA2: Inferencia de muestras de alta resolución

DADA2 es un paquete de R de código abierto, desarrollado por Callahan et al. (2016), que implementa un software que modela y corrige errores de amplicones producidos por la secuenciación de Illumina, sin la necesidad de construir OTUs (unidad taxonómica operativa). Este paquete implementa un flujo de trabajo que consta de un filtrado, desreplicación e identificación de las secuencias además de la eliminación de quimeras, así como la combinación de lecturas de extremos emparejados. DADA2 genera menos secuencias incorrectas que otros métodos de construcción de OTUs, por lo que tiene una mayor fiabilidad en los análisis posteriores de diversidad. El punto de partida son archivos FASTQ, que se obtienen a través de la secuenciación por la tecnología de Illumina, los cuales están divididos por muestra y que los adaptadores ya han sido eliminados. El producto final es una tabla ASV (variantes de secuencias de amplicón), que es un análogo de mayor resolución a la tabla de OTU tradicional, que registra el número de veces que se observó cada variante de secuencia del amplicón por muestra, permitiendo que se tenga una resolución más alta. Además se puede asignar taxonomía a las secuencias de salida mediante la implementación del método bayesiano ingenuo y la base de datos Silva v.138.1 (McLaren et al., 2021), para las secuencias del gen 16S del ARN ribosomal (ARNr) de bacterias.

2.2.3.2 LEfSe: propuesta de biomarcadores taxonómicos de la microbiota

Los biomarcadores son caracteres en un organismo que pueden ser medidos como un indicador de un estado basal, un proceso patológico o una respuesta farmacológica de un tratamiento, el cual puede ser objetivamente cuantificado (Ahmad et al., 2023). A través de un análisis discriminante lineal de tamaño de efecto (LEfSe, por sus siglas en inglés) desarrollado por Segata et al. (2011), se pueden obtener biomarcadores, los cuales pueden ser microorganismos, unidades taxonómicas operativas (OTUs) o genes que tienen una alta probabilidad de explicar las diferencias entre clases. Esto se logra mediante la combinación de la prueba factorial no paramétrica de Kruskal-Wallis que es usada para detectar las características con una abundancia diferencial significativa y un análisis discriminante lineal para estimar el tamaño del efecto de cada abundancia diferencial.

“microbiomeMaker” es un paquete de R desarrollado por Cao et al. (2022), implementado para análisis diferenciales como es el caso de LEfSe. La metodología de este paquete se centra en dos objetos principalmente: un objeto phyloseq, que almacena los perfiles metagenómicos de entrada y los objetos de micromeMaker, los cuales contienen los marcadores de microbioma identificados y otros datos relacionados.

2.2.3.3 microeco: una herramienta para obtener perfiles funcionales

Los perfiles funcionales se entienden como la cuantificación del contenido de genes y vías metabólicas que son aportados por los miembros de la comunidad microbiana, ya sean éstos caracterizados o no (Franzosa et al., 2018). Los análisis de funcionalidad son de gran importancia para entender los mecanismos que estructuran los patrones de coexistencia entre las especies y comunidades. Éstos se pueden identificar a través de la secuenciación metagenómica. Sin embargo, la secuenciación metagenómica es costosa y complicada por lo que la predicción de los perfiles funcionales a través de las secuencias de genes marcadores, como el caso del gen 16S del ARNr, ha sido una alternativa rápida y accesible (Pérez et al., 2020).

“microeco” es un paquete de R desarrollado por Liu et al. (2022) para diversos análisis de comunidades microbianas, entre ellas análisis de predicciones funcionales. El cual, implementa la base de datos FAPROTAX (Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) (Louca et al., 2016) y la base de datos NJC19 (Lim et al., 2020) que se encargan de comparar la taxonomía asignada en OTUs contra las funciones metabólicas establecidas encontradas en estas bases de datos (Liu et al., 2022).

3. HIPÓTESIS

- Existen diferencias en la diversidad de la microbiota intestinal de pacientes con MDD en comparación a los controles saludables, al igual entre pacientes con MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos.
- Hay alteraciones en los perfiles funcionales de la microbiota intestinal de los pacientes con MDD, indicando que la microbiota presente está impactando en el intestino de manera que se puede relacionar con el desarrollo de MDD.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo particular

- Predecir los perfiles funcionales de la microbiota intestinal asociada a pacientes con MDD a partir de secuencias del gen 16S del ARNr.

4.2. Objetivos generales

- Realizar un análisis de perfiles funcionales de las secuencias del gen 16S del ARNr de las muestras de la microbiota intestinal de pacientes con MDD y controles saludables.
- Comparar la diversidad bacteriana presente en pacientes con MDD y en los controles saludables.
- Comparar los géneros bacterianos asociados al MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos a través de los análisis de biomarcadores taxonómicos.

5. METODOLOGÍA

Todo el código utilizado para la realización de los siguientes análisis se pueden consultar en <https://github.com/gabrielatof/tesis>. El método se ejemplifica en la **Fig. 1**.

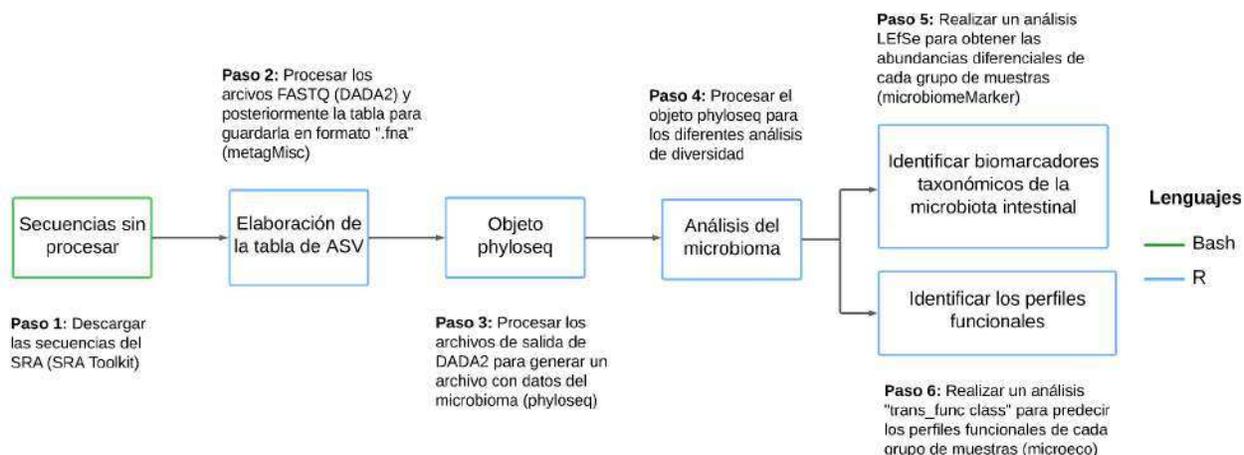


Figura 1. Diagrama de flujo de la metodología utilizada. Los procesos ejecutados en el lenguaje de Bash están representados por recuadros verdes, mientras que los procesos realizados en R se encuentran en recuadros azules. Entre paréntesis se indica el paquete utilizado para realizar cada función específica.

5.1. Descripción del estudio

En este trabajo se incluyeron las secuencias del gen 16S del ARNr de los pacientes hospitalizados y diagnosticados con MDD, y los controles saludables (CS) del trabajo publicado de Dong et al. (2022). Los archivos SRA sin procesar se extrajeron de la NCBI Short Read Archive, bajo el ID BioProject PRJNA778934. Los sujetos de este estudio habitan en Chengdu (Sichuan, China) y contaban con las siguientes características: edad (18 a 45 años), hábitos alimenticios (no vegetarianos ni veganos), sin enfermedades ni comorbilidades (no enfermedades cardiovasculares, endocrinas, metabólicas, y digestivas), sin abuso de alcohol y/o drogas, ni ingesta de antibióticos y/o probióticos así como registro de infecciones microbianas 6 meses antes del estudio. Los pacientes con MDD recibieron tratamiento con antidepresivos por 8 semanas, de los cuales se usaron tres antidepresivos del tipo SSRI (citalopram, escitalopram y paroxetina) y uno del tipo SNRI (venlafaxina). Secuenciaron las muestras fecales tomadas antes y después del tratamiento, mediante la plataforma Miseq Illumina.

5.1.1. Base de datos

Se seleccionaron únicamente los archivos que tuvieran información sobre el tipo de paciente (MDD o CS) y/o réplica de la muestra después del periodo de tratamiento, excluyendo aquellos archivos que carecían de esta información. Los archivos se descargaron con ayuda de la herramienta SRA Toolkit (Staff, 2011), siguiendo las indicaciones de instalación y tutorial para obtener los archivos SRA sin procesar.

5.2. Procesamiento de datos con DADA2 y construcción de tabla ASV

Los archivos FASTQ se procesaron en R studio v.4.2.2 utilizando el paquete DADA2 v.1.16 (Callahan et al., 2016). Se utilizó el siguiente parámetro de filtrado y recorte: `truncLen=c(280,220)` (**Fig. 2**).

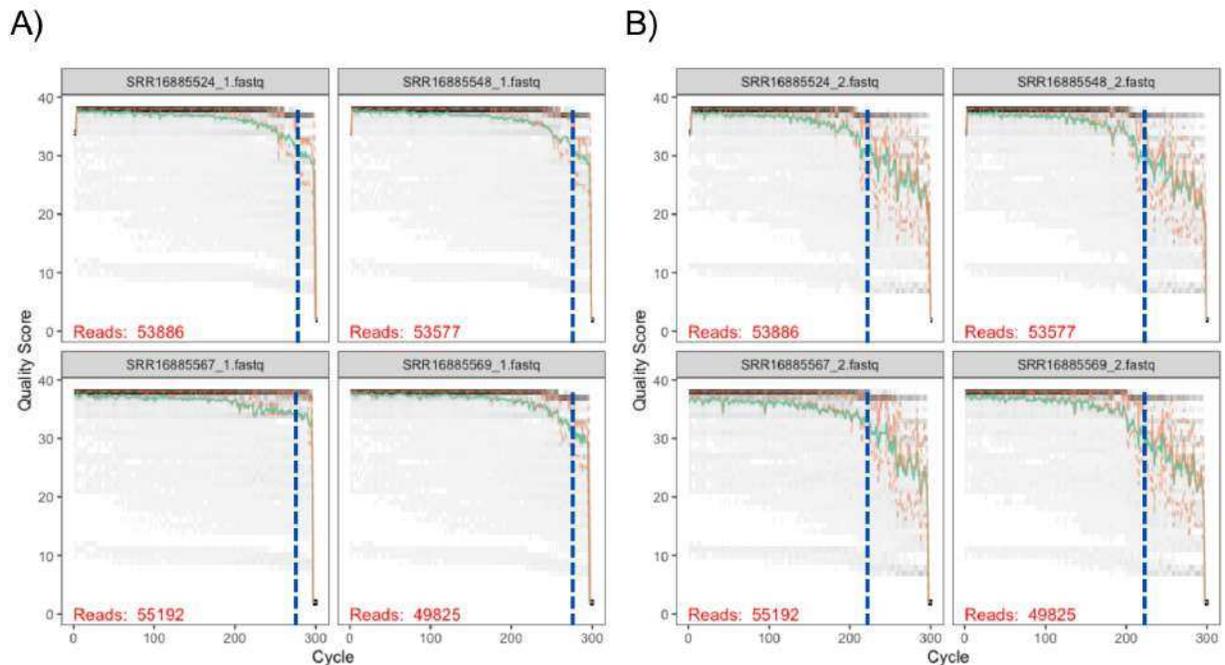


Figura 2. Perfiles de calidad de las secuencias. La escala de grises representa un heatmap de la frecuencia de cada puntaje de calidad en cada posición de la base. La línea verde muestra la puntuación de calidad media en cada posición, la línea naranja muestra los cuartiles de la distribución de la puntuación de la calidad y la línea azul representa el sitio aproximado de corte. A) Para secuencias forward, y B) secuencias reverse.

El parámetro de corte se seleccionó en el sitio aproximado en donde la calidad de la secuencia empieza a decaer, basándonos en el valor de la calidad Phred, la cual estima la probabilidad de error en la asignación de bases durante la secuenciación en puntajes que van desde el 0 al 40, y que entre mayor sea el puntaje la probabilidad de error disminuye (Goswami & Sanan-Mishra, 2021). Los parámetros de corte para las secuencias forward (280) y reverse (220) se encuentran cuando la calidad cae en valores menores de 30, representando que la probabilidad de error en ese sitio es de 1 base en 1000.

Una vez teniendo las lecturas filtradas, se fusionaron para obtener las secuencias completas sin ruido y construir la tabla de ASV. Luego, se prosiguió a eliminar las secuencias quiméricas, y asignar la taxonomía mediante las secuencias de referencia de la base de Silva v.138.1 (McLaren et al., 2021). Este paso asigna la taxonomía desde reino a género bacteriano presente en las muestras agrupándolas en una matriz.

5.3. Análisis del microbioma de pacientes con MDD y CS

Los análisis del microbioma se realizaron con ayuda de los siguientes paquetes: phyloseq v. 1.42.0 (McMurdie et al., 2013), Biostrings v. 2.66.0 (Pagès et al., 2023), ggplot2 v. 3.4.1 (Wickham, 2016), tidyverse v. 2.0.0 (Wickham, 2019), DT v.0.28 (Xie et al., 2023), vegan v.2.6-4 (Oksanen et al., 2022), microbiome v. 1.20.0 (Lahti & Shetty, 2019), ggpubr v.0.6.0 (Kassambara, 2023), kableExtra v.1.3.4 (Zhu, 2021), MicrobiotaProcess v.1.12.4 (Xu et al., 2023).

Primero se generó el objeto phyloseq, el cual se obtiene fusionando la tabla de ASV sin las secuencias quiméricas y las secuencias con la asignación taxonómicas del paso anterior, siguiendo con elaborar un data frame que contenía la prevalencia de cada característica y asignación taxonómica. A partir de esta estructura de datos se realizó un control de calidad tomando dos tipos de filtrado: 1) filtrado de la taxa a un umbral de $1e-5$, y 2) un filtrado de las muestras con menos de 500 lecturas.

La diversidad alfa de las muestras se calcularon de acuerdo a las especies observadas, los índices de diversidad Chao, Simpson y Shannon. Se realizaron pruebas Wilcoxon para obtener la significancia estadística. Por otra parte, la diversidad beta se obtuvo mediante un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS, por sus siglas en inglés) usando la distancia Bray-Curtis y un análisis de similaridad ANOSIM para determinar la significancia estadística de las diferencias en la diversidad beta en los grupos obtenidos por el NMDS. Se graficaron los géneros y familias bacterianas de cada grupo de datos con la intención de tener una mejor visualización de qué taxa está teniendo una mayor abundancia, transformando el objeto phyloseq a un objeto MPSE y visualizando la abundancia relativa de las 20 taxas más abundantes de cada grupo.

5.4. Análisis de biomarcadores taxonómicos con LEfSe

Utilizando el paquete “microbiomeMarker” v.1.6.0 (Cao et al., 2022), se realizó un análisis LEfSe para identificar los microorganismos que son distintivos de la microbiota intestinal de pacientes con MDD que pueden ser utilizados como biomarcadores, que difieren en abundancia y ocurrencia entre los grupos de muestras (MDD y CS). Para todos los biomarcadores se utilizó el método de normalización “CPM”, un nivel de significancia alfa de 0.05 y un umbral de tamaño del efecto de 2.

5.5. Predicción de los perfiles funcionales de la microbiota intestinal

La predicción de los perfiles funcionales se realizó utilizando el paquete “microeco” v.1.1.0 (Liu et al., 2021). Primero se calcularon los porcentajes de taxones asociados con cada rasgo de la comunidad bacteriana y se le asoció las OTUs con la información de la base de datos FAPROTAX, después se realizó una prueba de abundancia diferencial del objeto generado anteriormente con el método de ANOVA y agrupado por el tipo de muestra (MDD y CS) y tiempo (antes y después del tratamiento con antidepresivos).

6. RESULTADOS

6.1. Descripción de metadatos

Se seleccionaron 90 muestras correspondientes al mismo número de individuos. Se obtuvieron 30 archivos que pertenecen a los CS y 60 archivos para los pacientes con MDD, de los cuales 30 archivos pertenecen a las muestras tomadas antes del tratamiento con antidepresivos en la semana 0 y 30 archivos de las muestras tomadas después del tratamiento en la semana 8. No se cuenta con información sobre el sexo, edad y tipo de antidepresivo tomado por el paciente ya que no se proporcionó esa información por los autores del trabajo original al momento de subir los archivos al SRA.

6.2. Calidad de las secuencias

La tabla de ASV que se obtuvo a partir de las 90 muestras, mostró un tamaño de 254301 ASVs y 24193 secuencias variantes después de la eliminación de las secuencias quiméricas. Al transformar la tabla ASV sin secuencias quiméricas a un objeto de tipo phyloseq y aplicar los filtros de calidad, el tamaño de 24193 taxa se conservó. Así mismo, las secuencias mostraron una buena cantidad de riqueza en función al número de lecturas de la muestra, lo cual indica que la profundidad de secuenciación fue suficiente para obtener todas las especies bacterianas tanto de las muestras de CS como de pacientes con MDD (**Fig. 3**).

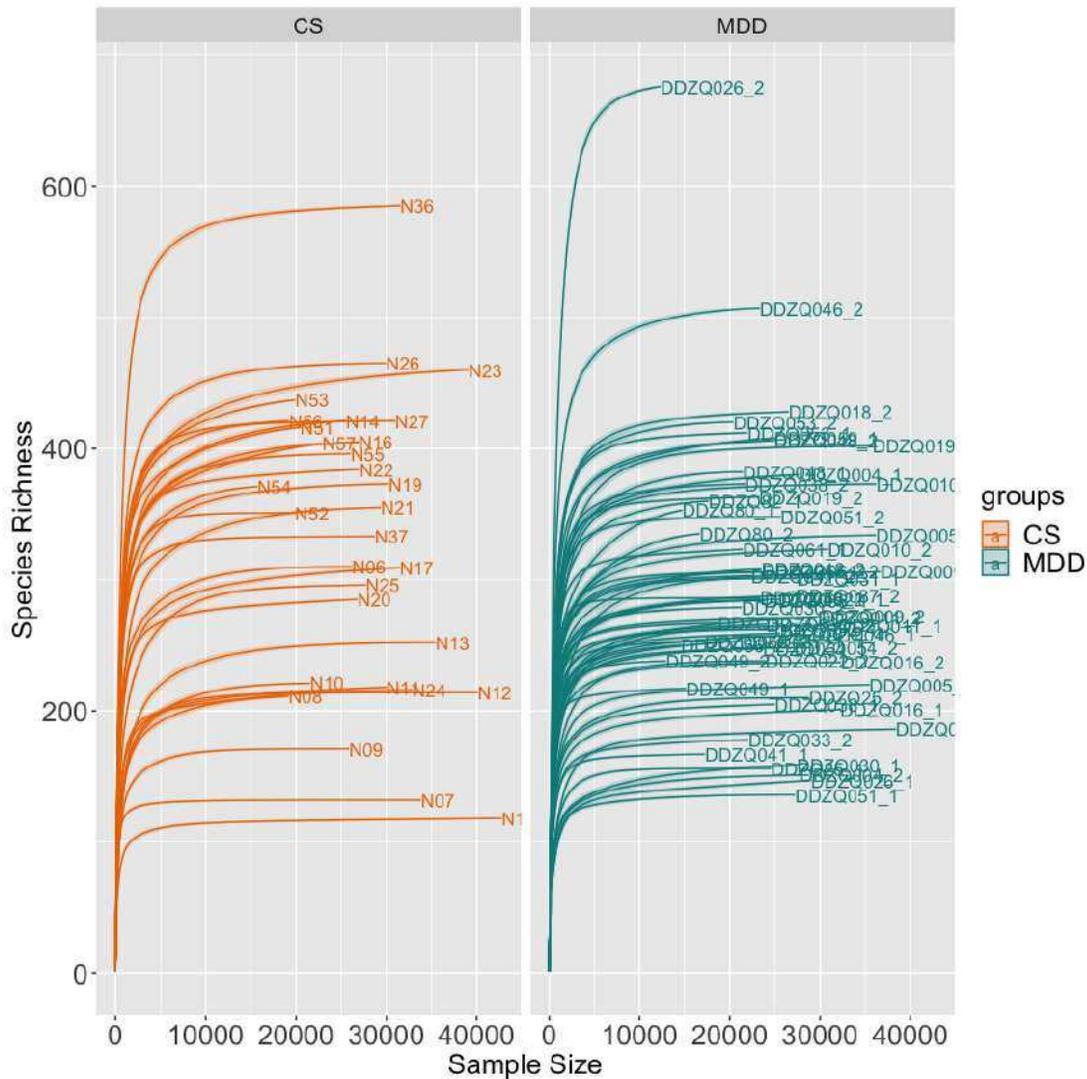


Figura 3. Curva de rarefacción de todas las muestras. Se separa por grupos de pacientes con MDD (cian) y CS (naranja).

6.3. Análisis de diversidad

Se encontraron diferencias significativas en la diversidad alfa, con los índices Chao1, Shannon, Simpson, estimada por las especies observadas ($p = 0.0314$) e índice de Chao1 ($p = 0.0377$) en los CS y pacientes con MDD antes del tratamiento (**Fig. 4**), observándose una disminución en la diversidad de los pacientes con MDD en comparación con los CS, lo que podría indicar que el MDD está asociado con una disminución de la diversidad alfa.

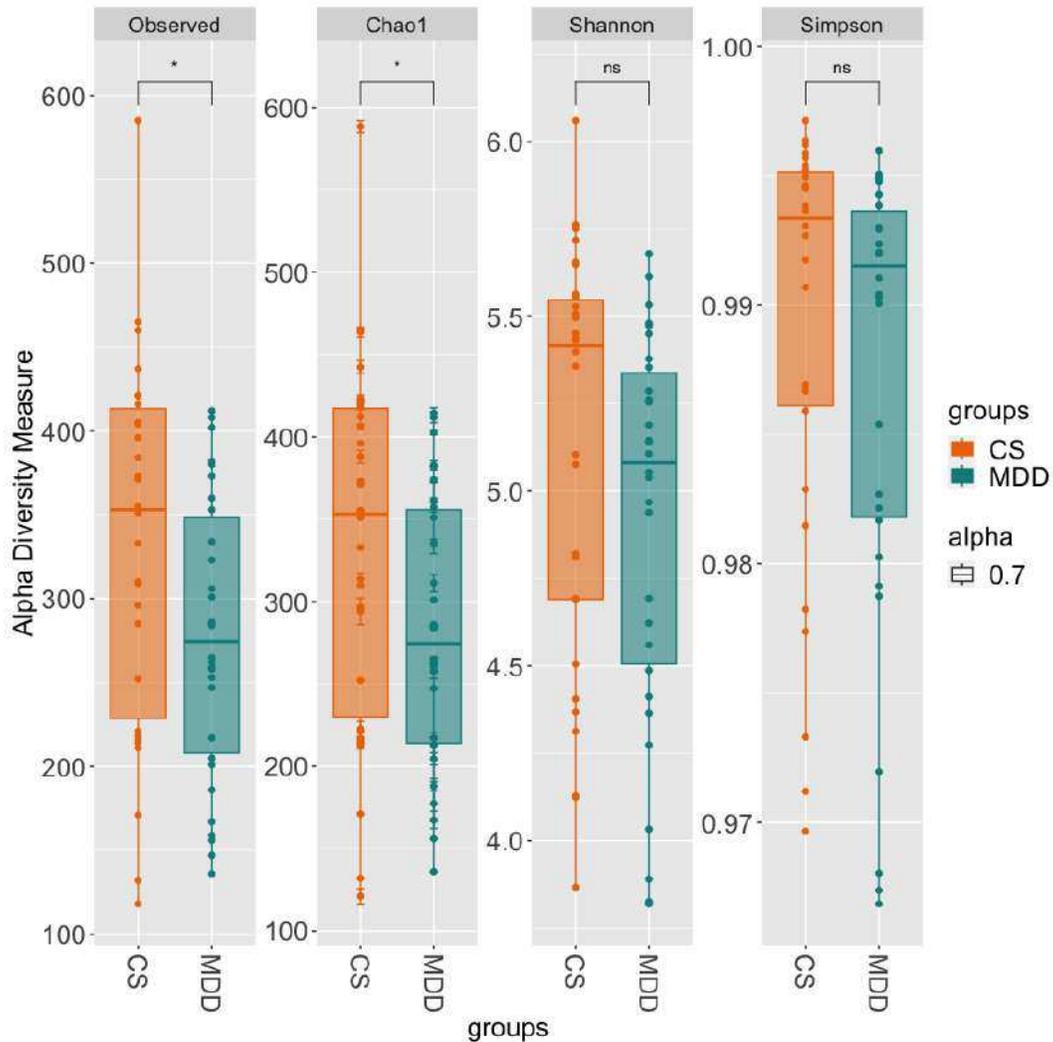


Figura 4. Diversidad alfa de los CS y pacientes con MDD antes del tratamiento. La diversidad alfa se midió por especies observadas (Observed), índice de Chao (Chao1), Shannon y Simpson, que se representa gráficamente para pacientes con MDD (cian) y CS (naranja). Las pruebas estadísticas mostraron diferencias significativas (*) para los índices de las especies observadas ($p=0.0314$) e índice de Chao1 ($p=0.0377$) y no significativas (ns) para Shannon ($p=0.0797$) y Simpson ($p=0.1194$).

Por otra parte, no se encontraron cambios significativos en la diversidad alfa de los pacientes con MDD antes (semana 0) y después del tratamiento con antidepresivos (semana 8) para ninguno de los índices de diversidad (**Fig. 5**), lo que indica que la administración de antidepresivos no tuvo ningún efecto en el aumento o disminución de la diversidad alfa.

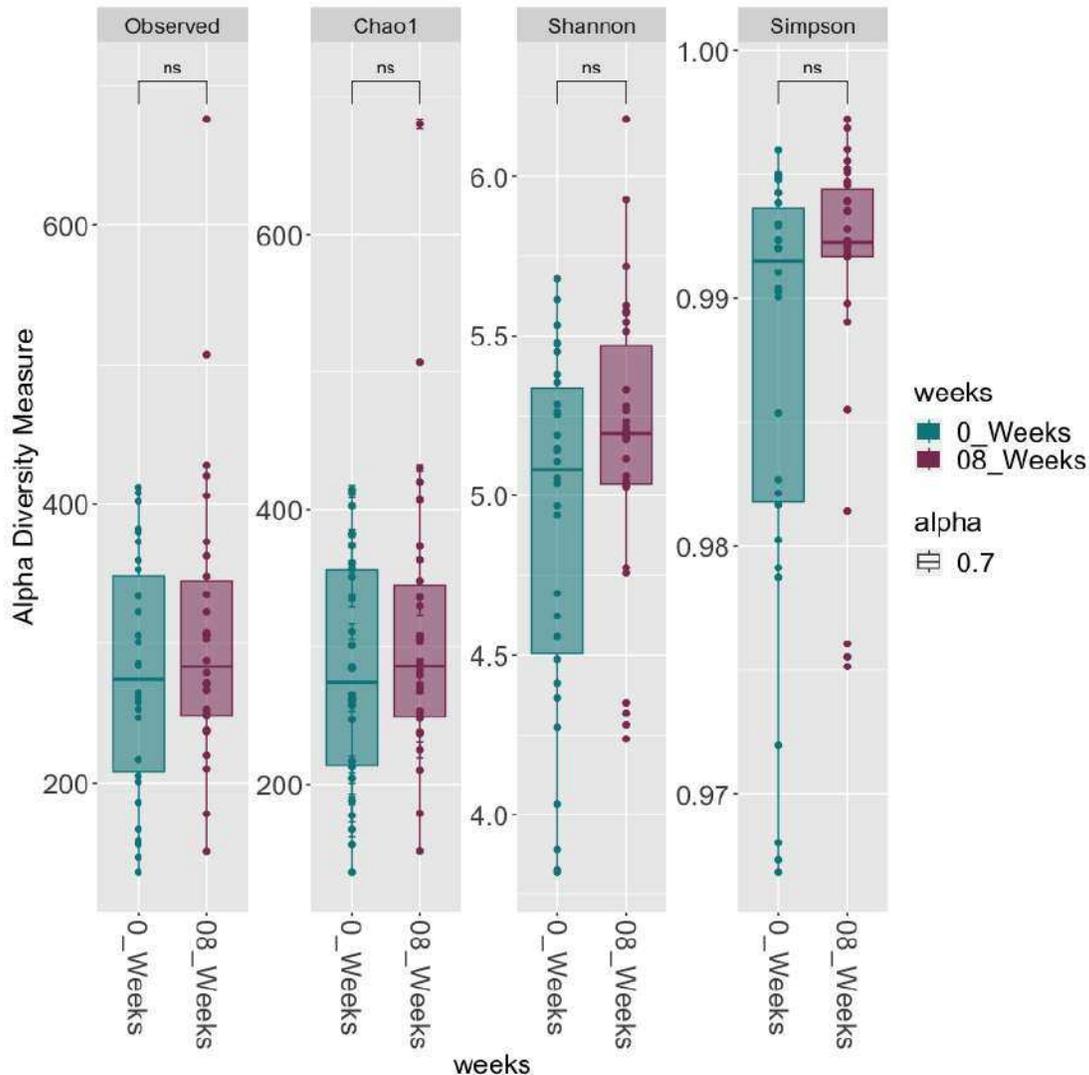


Figura 5. Diversidad alfa de pacientes con MDD. La diversidad alfa se midió por especies observadas (Observed), índice de Chao (Chao1), Shannon y Simpson, que se representa gráficamente para pacientes con MDD en la semana 0 (cian) y en la semana 8 (cereza). Las pruebas estadísticas no mostraron diferencias significativas (ns) para las especies observadas ($p=0.3516$), índice de Chao ($p=0.4317$), Shannon ($p=0.1266$) y Simpson ($p=0.1159$).

Para obtener la diversidad beta se aplicó un NMDS y ANOSIM para obtener la disimilitud de la composición de la microbiota entre los grupos de pacientes con MDD antes del tratamiento y CS. El NMDS no mostró diferencias en la composición de la microbiota a nivel de familia y género, lo cual se confirmó con el ANOSIM ($p=0.824$ y $p=0.178$, respectivamente) (**Fig. 6**). Estos resultados indican que la microbiota intestinal de los pacientes con MDD no difiere significativamente de los CS.

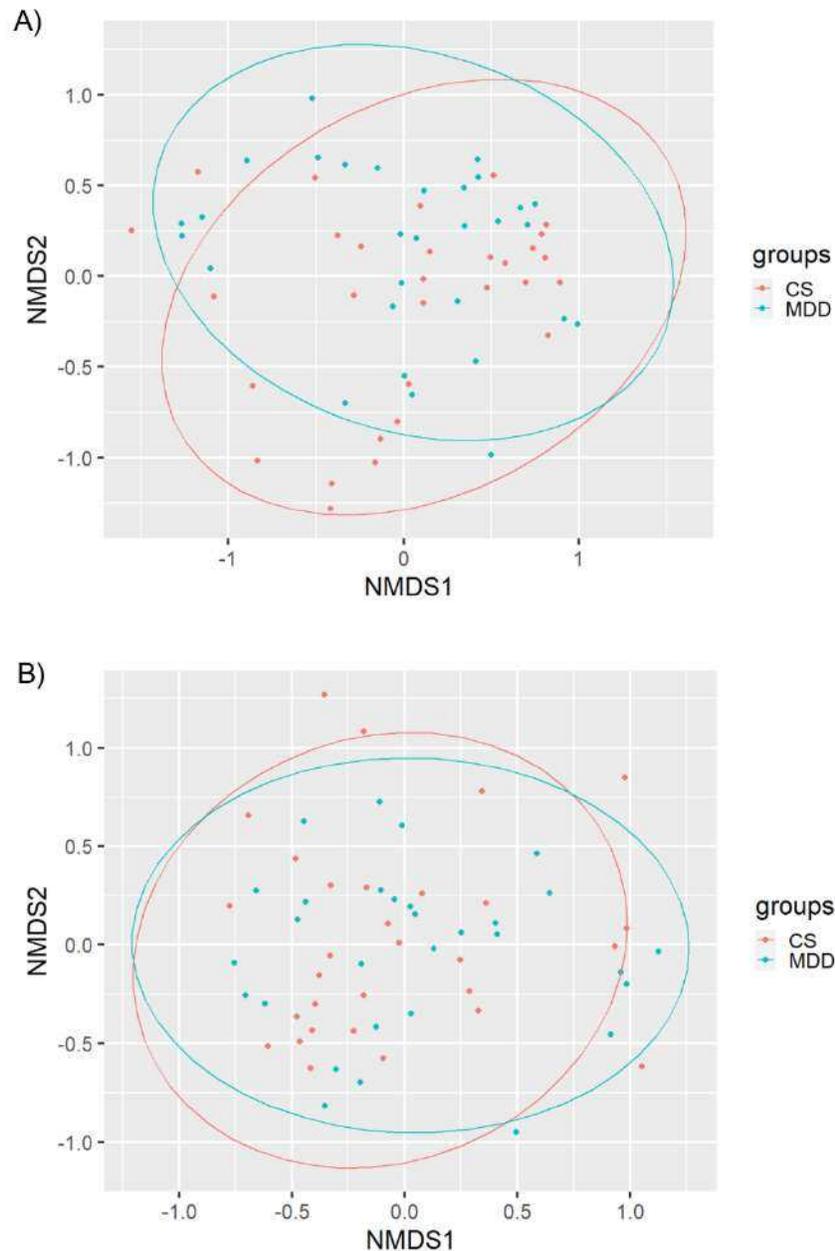


Figura 6. Diversidad beta de CS y pacientes con MDD. De acuerdo a NMDS basado en la distancia Bray-Curtis de las muestras de CS (naranja) y pacientes con MDD (cian). A) A nivel de familia no se encontraron diferencias significativas en la similitud probada por ANOSIM ($p = 0.824$, $R = -0.017$). B) A nivel de género, tampoco se encontraron diferencias significativas ($p = 0.178$, $R = 0.016$).

Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas en la composición de la microbiota a nivel de familia y género en los pacientes con MDD antes (semana 0) y después del tratamiento con antidepresivos (semana 8) ($p=0.009$ y $p=0.019$,

respectivamente) (**Fig. 7**). Lo que sugiere que la administración de antidepresivos tiene un efecto sobre la diversidad beta a nivel de género.

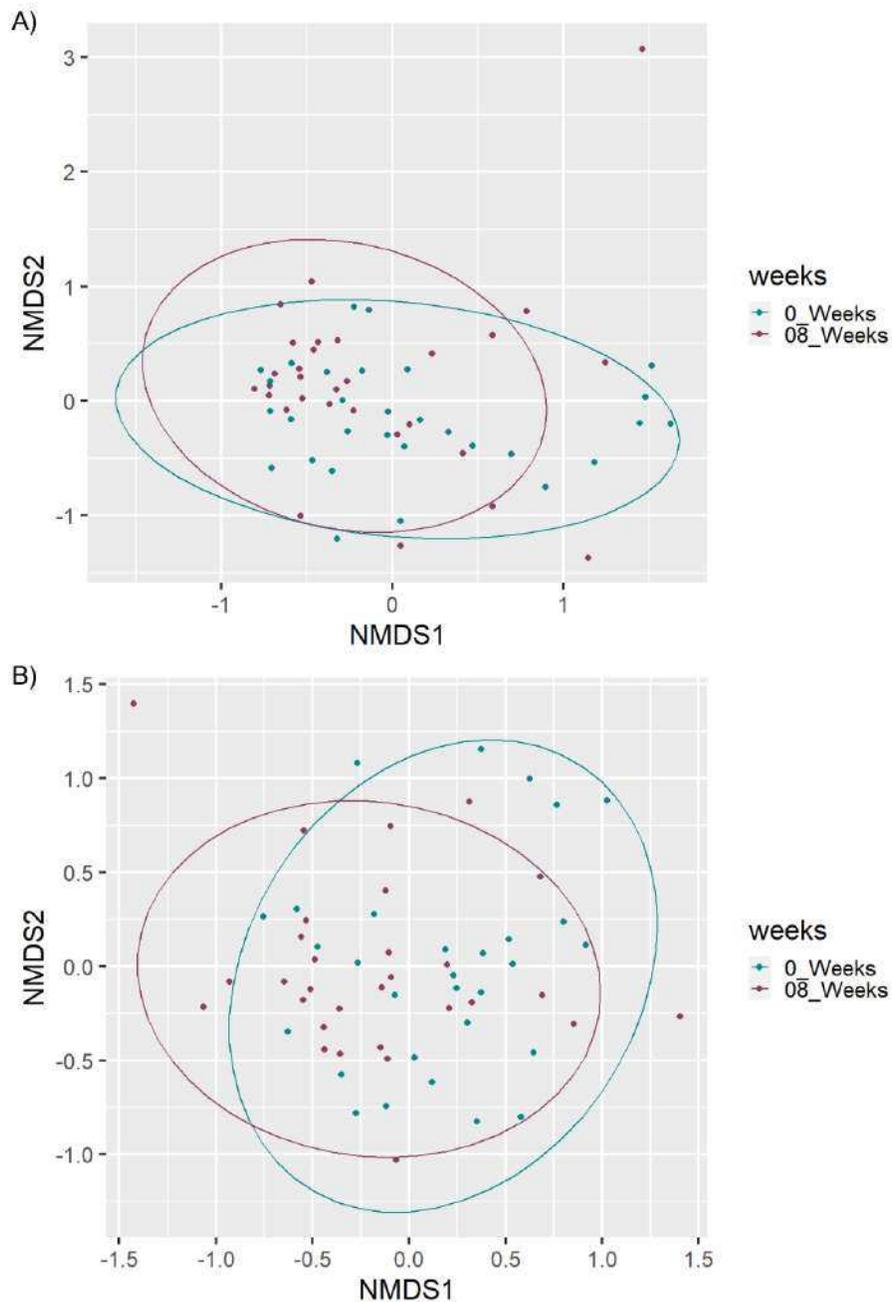


Figura 7. Diversidad beta de pacientes con MDD. De acuerdo a NMDS basado en la distancia Bray-Curtis de las muestras de pacientes con MDD en la semana 0 (cian) y 8 (ciruela) del tratamiento. A) A nivel de familia se encontraron diferencias significativas en la similitud probada por ANOSIM ($p = 0.011$, $R = 0.053$). B) Diversidad beta a nivel de género, de igual manera se encontraron diferencias significativas ($p = 0.019$, $R = 0.048$).

6.4. Diferencias en la microbiota intestinal de CS y pacientes con MDD

La abundancia relativa de las 20 familias más abundantes de los pacientes con MDD antes del tratamiento con antidepresivos es similar con las más abundantes de los CS, únicamente se detectó que la familia Prevotellaceae es más abundante en los CS que en los pacientes con MDD (**Fig. 8**).

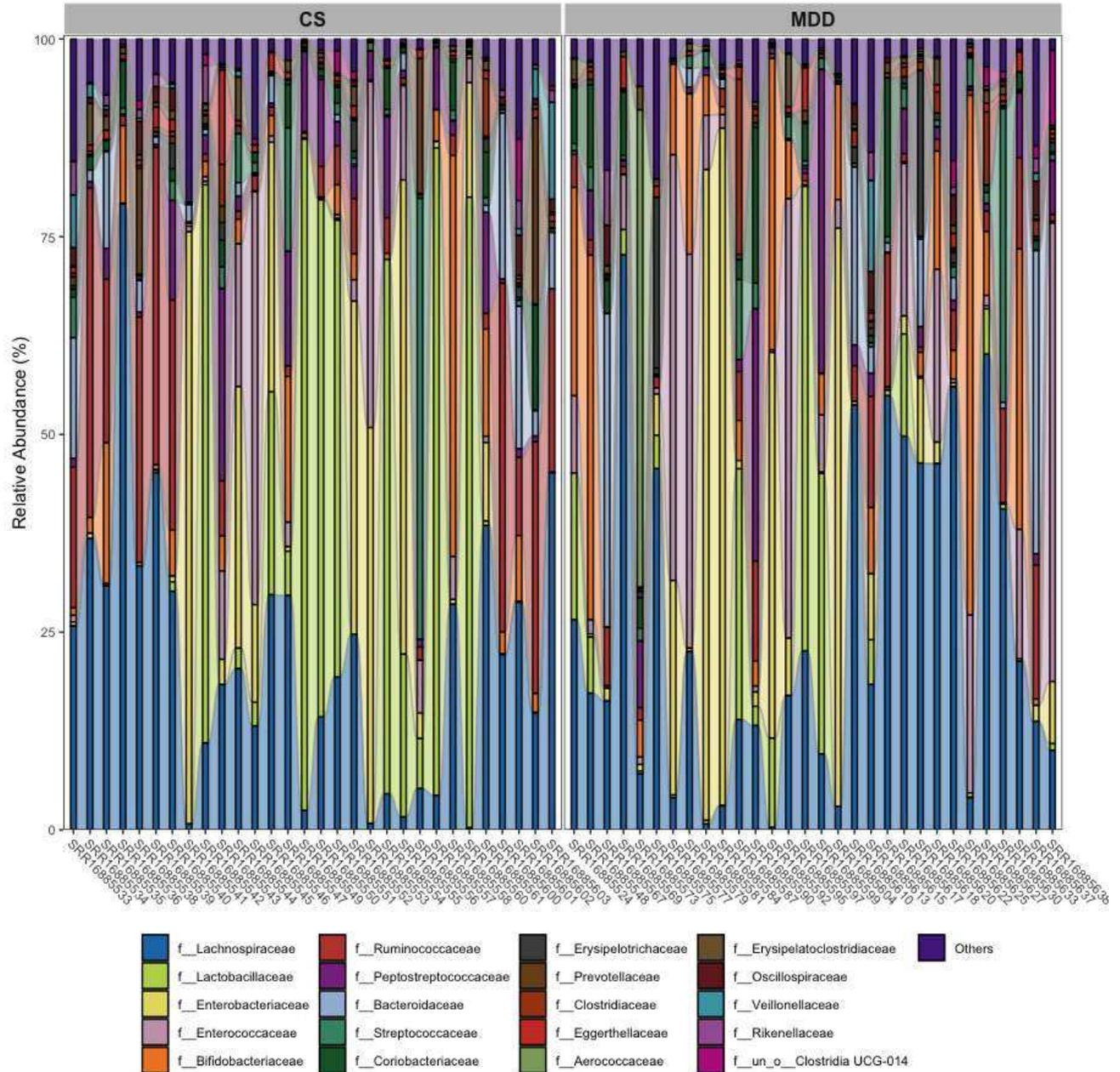


Figura 8. Diferencias en la abundancia relativa de las 10 familias más abundantes de CS y pacientes con MDD antes del tratamiento.

A nivel de género, las abundancias relativas de *Weissella*, *Faecalibacterium*, *Pediococcus* y *Anaerostipes* fueron más abundantes en los CS que en los pacientes con MDD, contrario a *Bacteroides*, *Dorea*, *Aerococcus* y *Roseburia* que tuvieron mayor abundancia en los pacientes con MDD que en CS (Fig. 9).

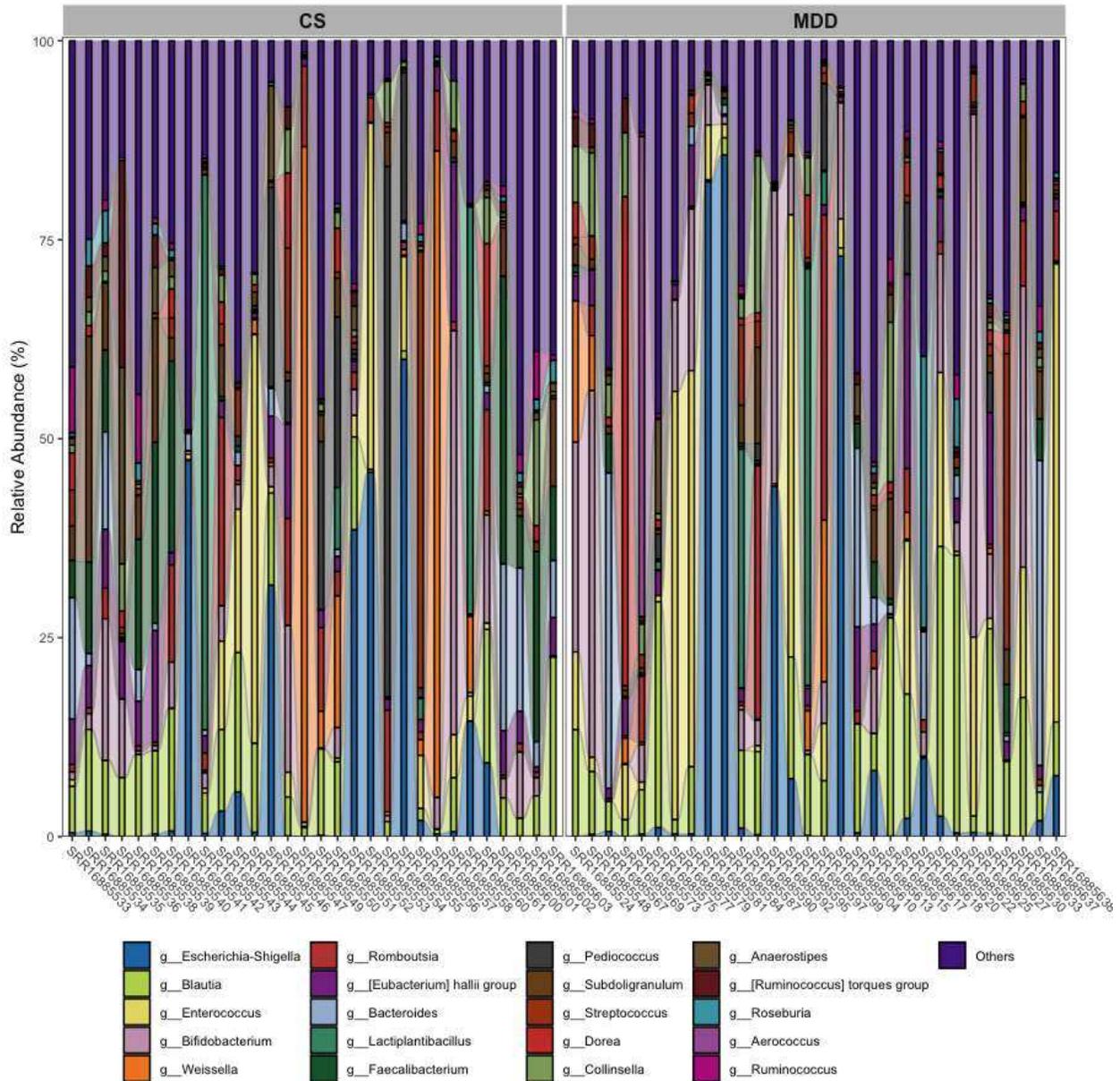


Figura 9. Diferencias en la abundancia relativa a nivel de género de CS y pacientes con MDD antes del tratamiento.

6.5. Diferencias en la microbiota intestinal de pacientes con MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos

Se observaron cambios en las comunidades de la microbiota intestinal en los pacientes con MDD después del tratamiento de antidepresivos, a nivel de familia hubo un aumento de Prevotellaceae después de las 8 semanas con antidepresivos, así como una disminución de las familias Peptostreptococcaceae (Fig. 10).

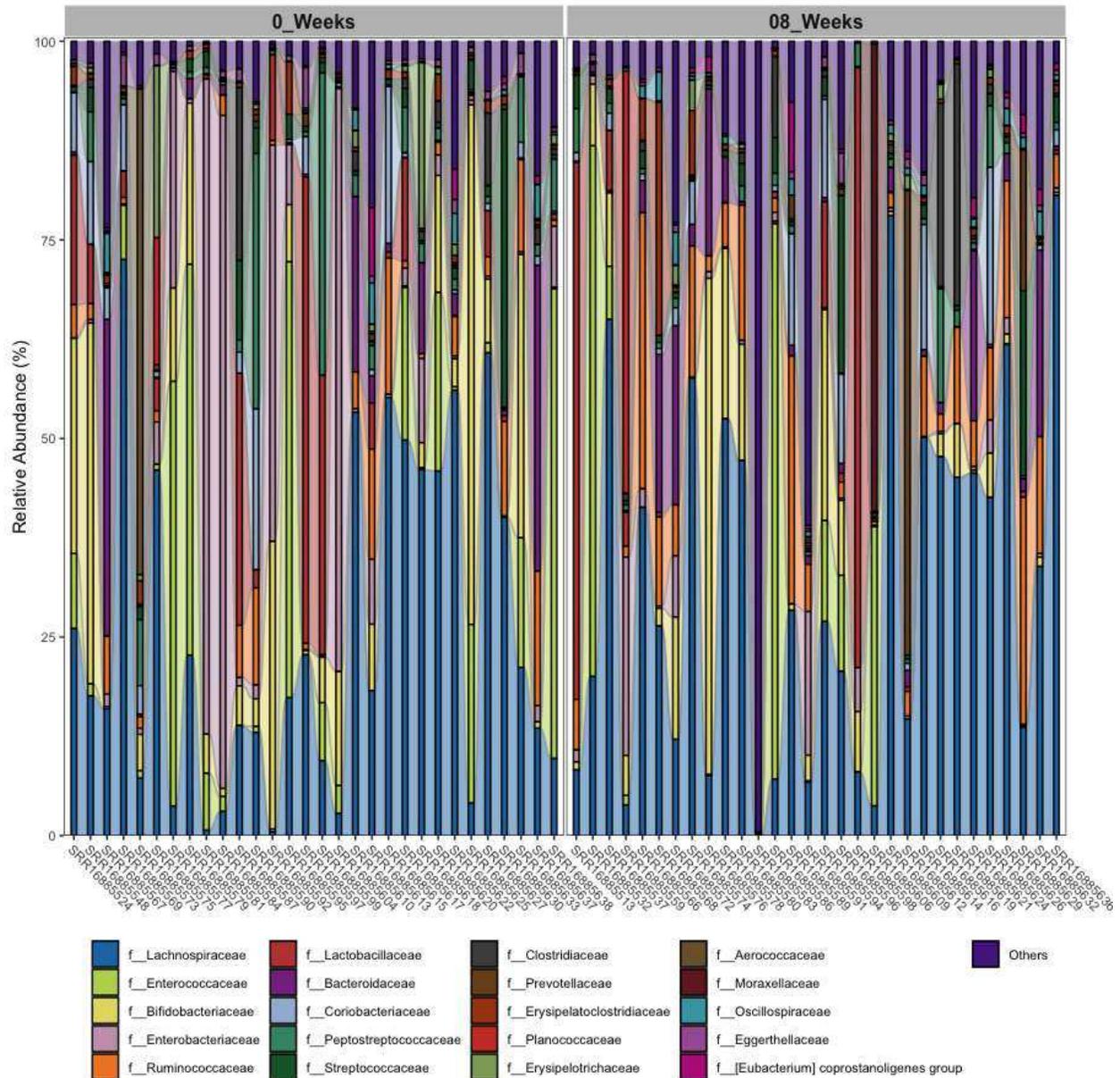


Figura 10. Diferencias en la abundancia relativa de las 10 familias más abundantes de los pacientes con MDD antes del tratamiento (0_Weeks) y después del tratamiento (08_Weeks).

Así mismo, se observaron cambios a nivel de género, especialmente con el aumento de *Faecalibacterium*, *Agathobacter*, *Pediococcus* y *Prevotella* después de la ingesta de antidepresivos, así como una disminución en *Escherichia-Shigella*, *Dorea*, *Lactiplantibacillus* y *Subdoligranulum* (Fig. 11).

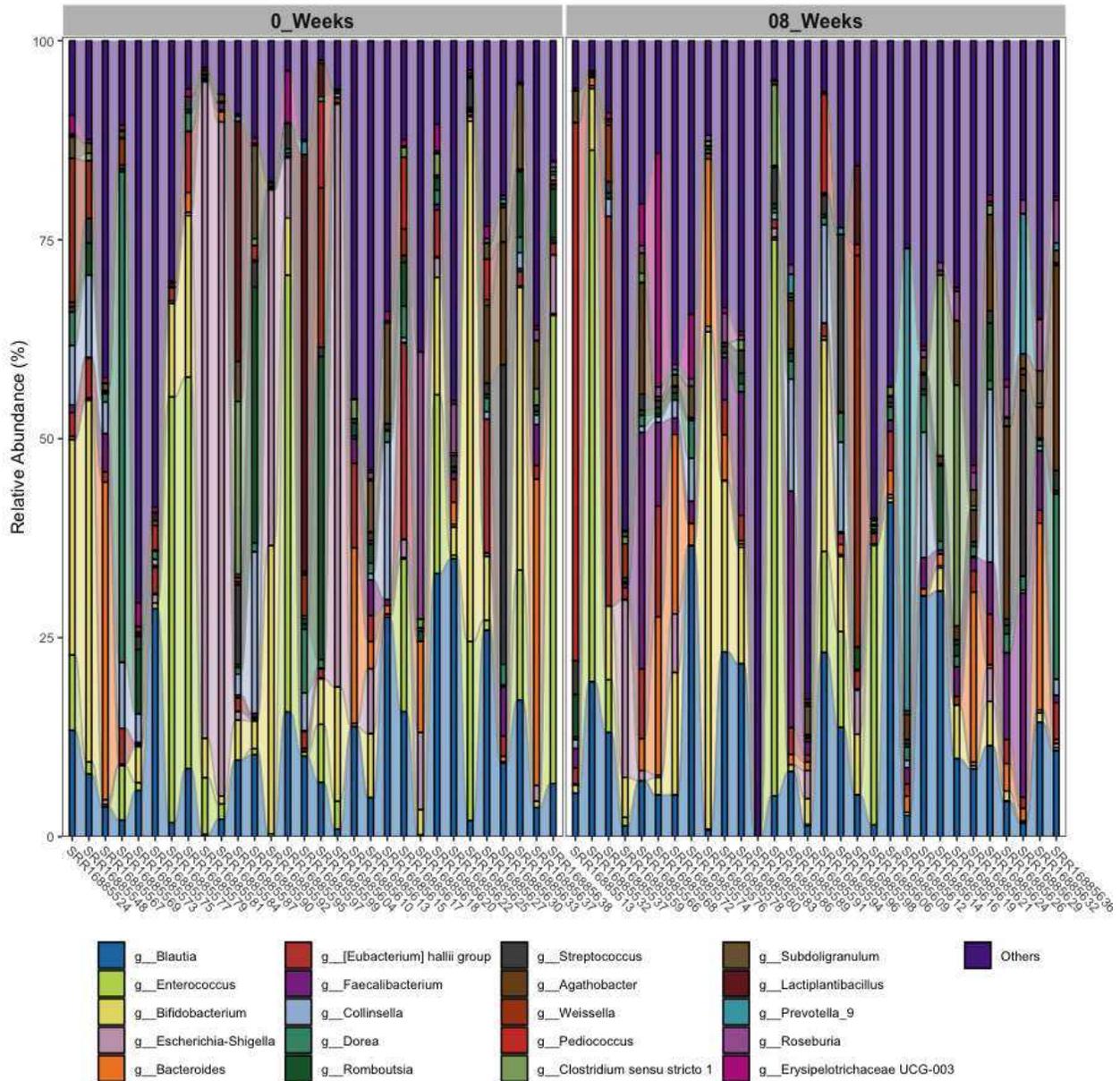


Figura 11. Diferencias en la abundancia relativa a nivel de género de los pacientes con MDD antes del tratamiento (0_Weeks) y después del tratamiento (08_Weeks).

6.7. Identificación de biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal en MDD

El análisis de LEfSe se utilizó para identificar grupos bacterianos clave que expliquen las diferencias entre los pacientes con MDD antes del tratamiento y los CS. Se identificaron 17 biomarcadores totales, 9 biomarcadores del MDD y 8 de los CS, en los niveles taxonómicos de orden, familia y género (Fig. 12). Los que tuvieron una mayor abundancia significativa dentro del grupo de los pacientes del MDD en comparación a los CS fueron los géneros *Intestinibacter*, *Eggerthella* y *Family XIII AD3011*. Por otro lado, los géneros *Levilactobacillus*, *Fusicatenibacter* y *CAG-352* se encontraron con una abundancia significativamente mayor en comparación con el grupo de MDD.

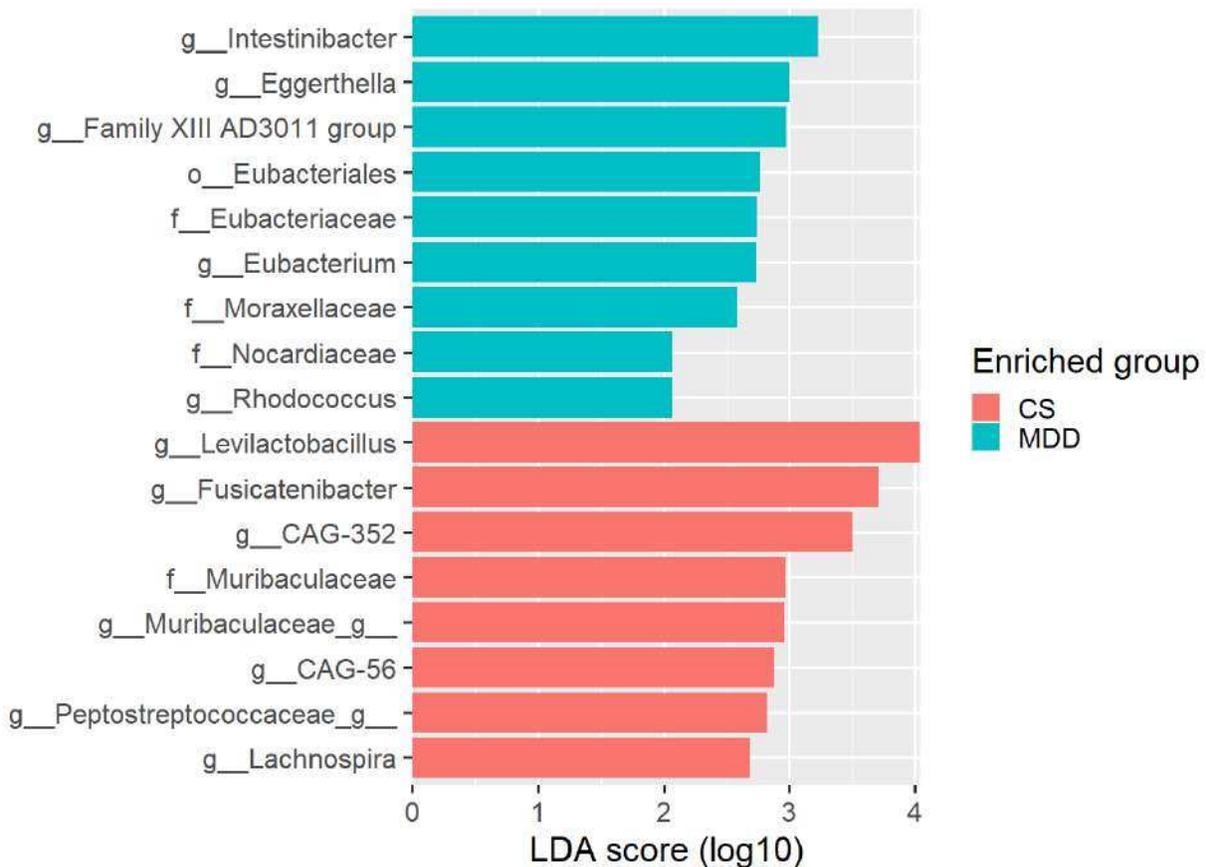


Figura 12. Análisis de LEfSe de los biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal de los CS y pacientes con MDD en la semana 0. Los taxones enriquecidos antes del tratamiento MDD (cian) y CS (naranja) están calificados con una puntuación del LDA positiva. Solo se muestran los taxones que cumplen con el umbral LDA > 2.

6.7. Identificación de biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal en MDD con tratamiento de antidepresivos

Se identificaron un total de 34 biomarcadores en el grupo de pacientes con MDD tanto antes como después del tratamiento con antidepresivos. Estos biomarcadores se categorizaron en orden, familia y género. Del total, 21 biomarcadores se encontraron en el grupo de pacientes antes del tratamiento, mientras que 13 se observaron después del tratamiento (**Fig. 13**). Entre los biomarcadores con una mayor abundancia significativa después del tratamiento en comparación con antes, se encontraron los géneros *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Butyricoccus*. En contraste, los biomarcadores con una mayor abundancia significativa antes del tratamiento fueron el orden Lactobacillales, la familia Enterobacteriaceae y el género *Escherichia-Shigella*.

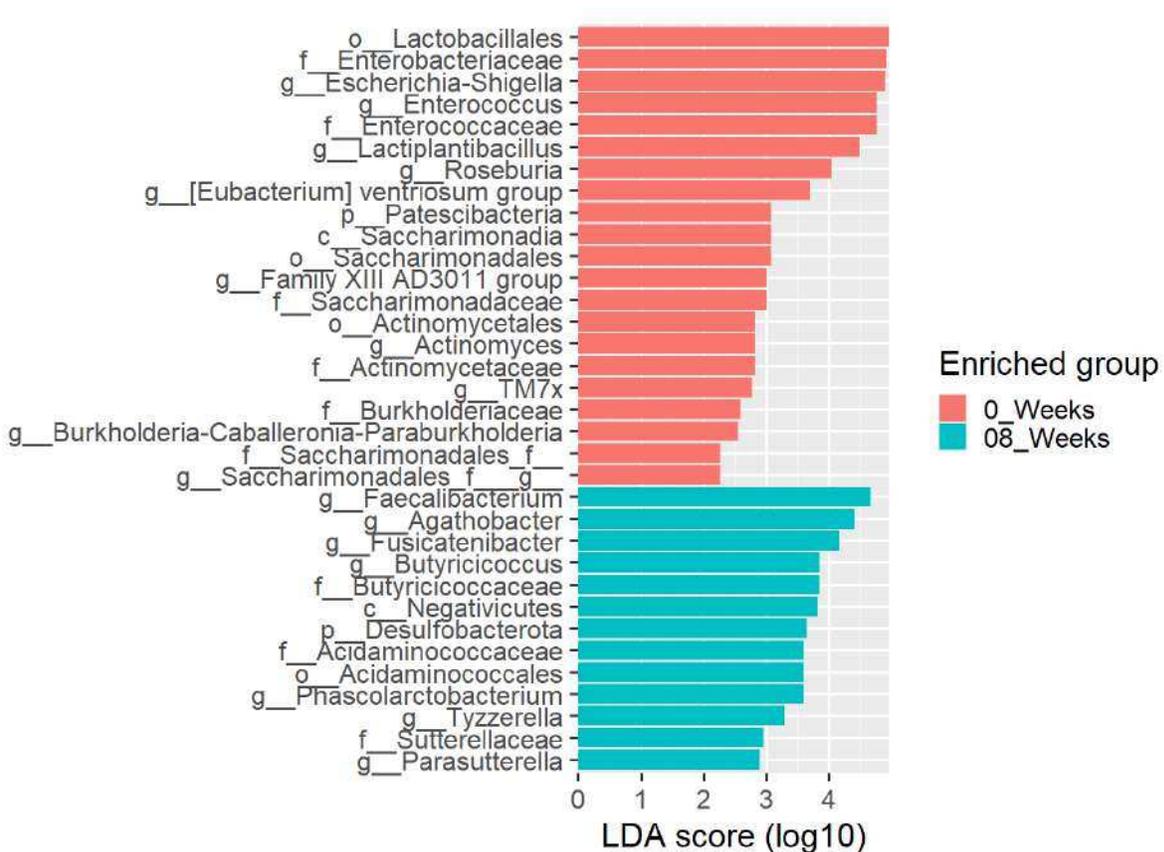


Figura 13. Análisis de LefSe de los biomarcadores taxonómicos de la microbiota intestinal de los pacientes con MDD antes del tratamiento (0_Weeks) y después del tratamiento (08_Weeks). Los taxones enriquecidos antes del tratamiento (naranja) y a las 8 semanas del tratamiento (cian) están calificados con una puntuación del LDA positiva. Solo se muestran los taxones que cumplen con el umbral LDA > 2.

6.8. Predicción de los perfiles funcionales de la microbiota intestinal en MDD

El análisis de predicción funcional detectó 8 categorías de vías metabólicas abundantes asociadas a la microbiota intestinal de los pacientes con MDD y los CS (Fig. 14).

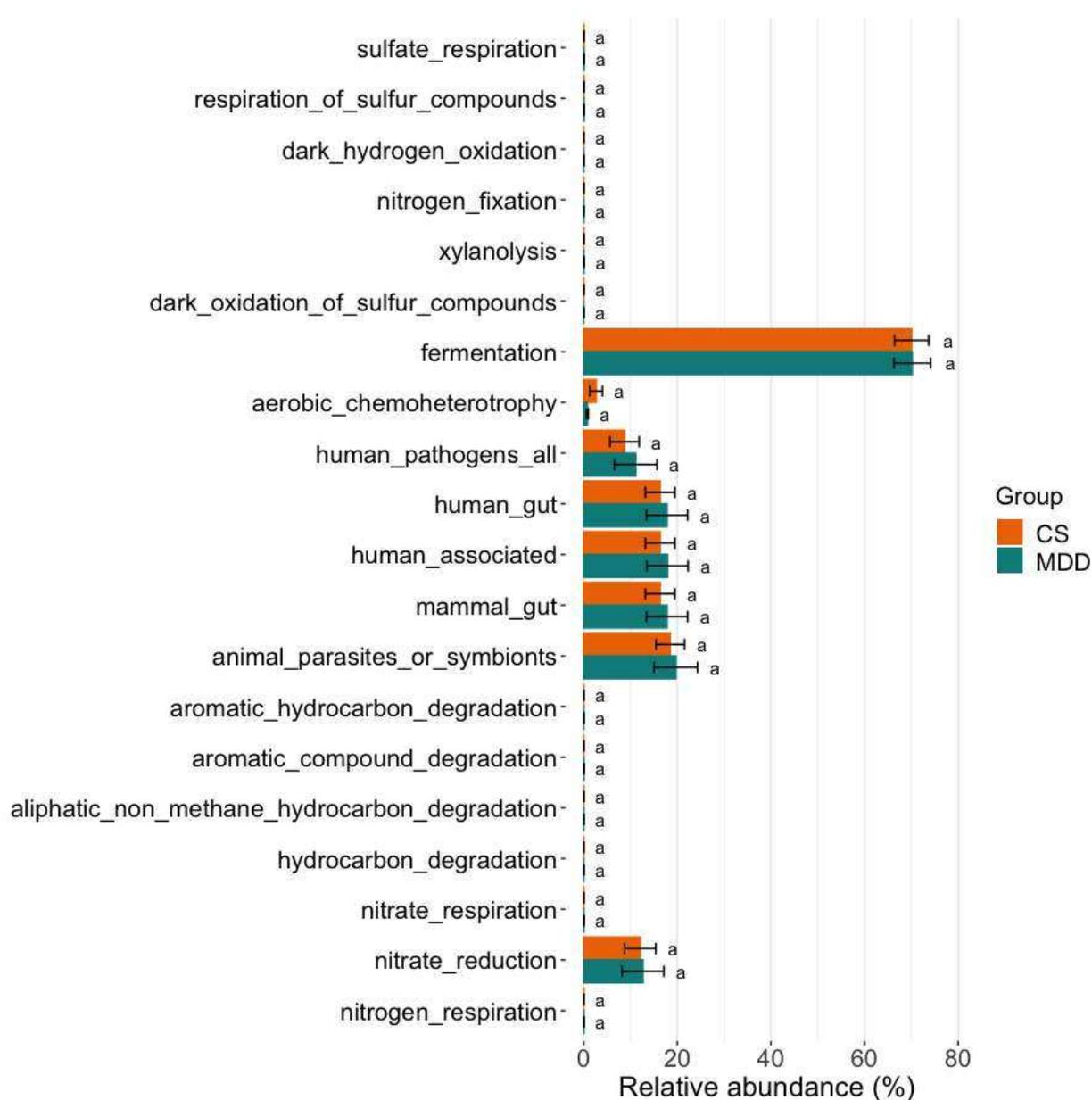


Figura 14. Abundancia relativa de las categorías de vías metabólicas de la microbiota de pacientes con MDD y CS. Los perfiles funcionales de ambos grupos, pacientes con MDD antes del tratamiento (cian) y los CS (naranja) están asociados a la base de datos FOTAPROX y evaluado con el método ANOVA.

Las vías metabólicas que detectó el paquete de R microeco tanto para los pacientes con MDD antes del tratamiento y los CS fueron las asociadas con procesos de fermentación, quimioheterotrofia aeróbica, reducción de nitratos así como procesos relacionados con la propia microbiota intestinal y procesos nocivos de microorganismos patógenos para el humano. Estos no mostraron alguna abundancia diferencial significativa entre ambos grupos, lo que podría indicar que la presencia de enfermedades como el MDD no está teniendo ningún impacto a nivel metabólico en la microbiota intestinal en comparación con la microbiota intestinal de la población saludable.

6.9. Predicción de los perfiles funcionales de la microbiota intestinal en MDD con tratamiento de antidepresivos

Comparando los grupos de pacientes con MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos, observamos que el análisis de predicción funcional detectó 3 categorías de vías metabólicas de la microbiota intestinal (**Fig. 15**). Estas categorías que se detectaron fueron asociadas con procesos de fermentación, quimioheterotrofia aeróbica y procesos nocivos de microorganismos patógenos para el humano. De las cuales la quimioheterotrofia aeróbica no mostró una abundancia diferencial significativa. Sin embargo, la fermentación y los procesos patológicos sí mostraron una abundancia diferencial significativa.

Por parte de los procesos de fermentación y procesos patológicos, mostraron una abundancia significativamente menor en los pacientes con MDD después de los antidepresivos, lo que posiblemente pueda significar que la ingesta de ciertos antidepresivos, como los utilizados en estos pacientes (del tipo SSRI y SNRI), estén teniendo un impacto sobre estas categorías de vías metabólicas disminuyendo su abundancia en la microbiota intestinal de pacientes con MDD en tratamiento.

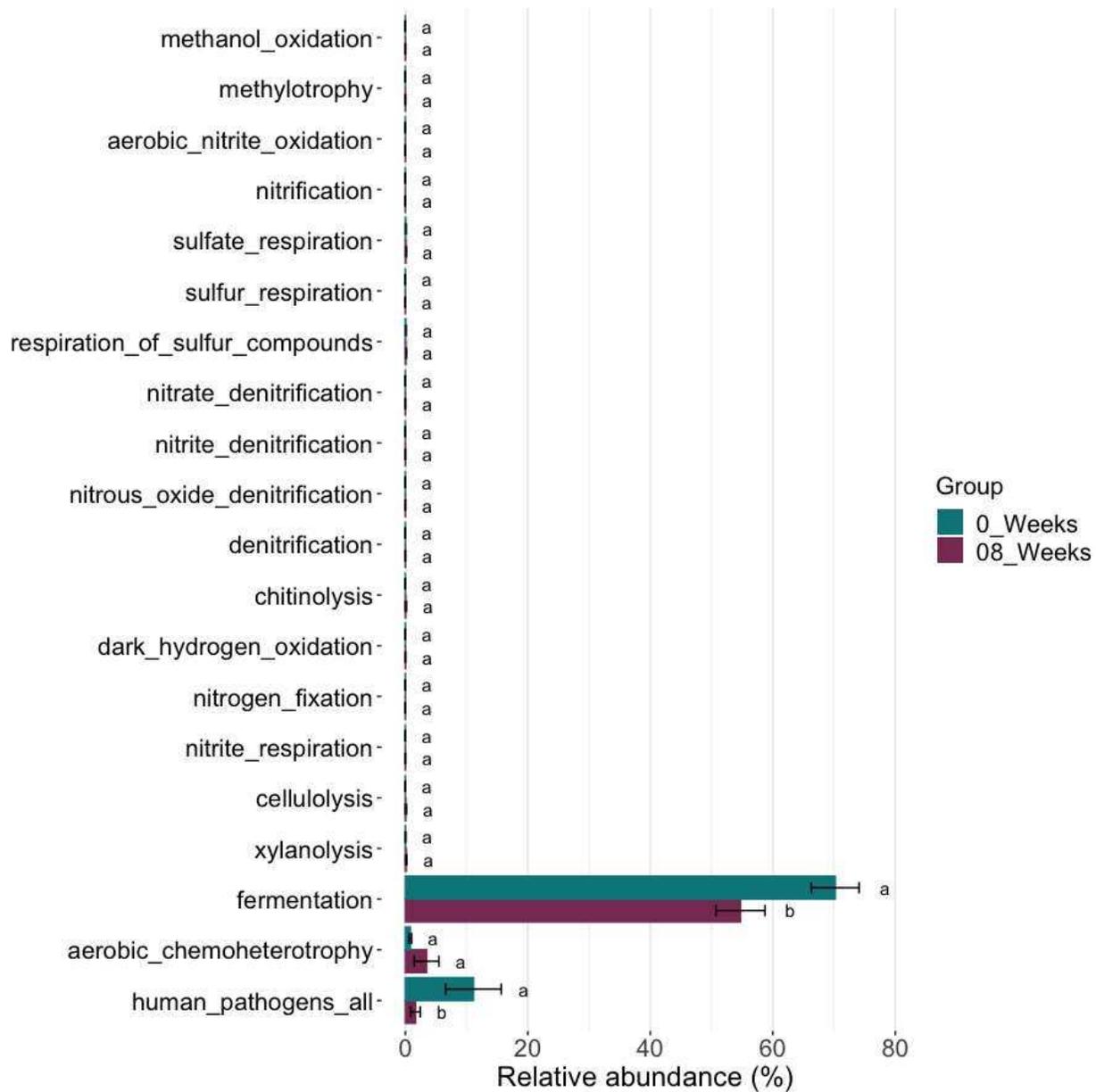


Figura 15. Abundancia relativa de las categorías de vías metabólicas de la microbiota de pacientes con MDD antes y después del tratamiento. Los perfiles funcionales de ambos grupos, pacientes con MDD antes (0_Weeks, cian) y después del tratamiento (08_Weeks, ciruela) están asociados a la base de datos FOTAPROX y evaluado con el método ANOVA.

7. DISCUSIÓN

El MDD es un trastorno complejo, en el cual, diversos factores están involucrados en su desarrollo y curso de la enfermedad, entre ellas la microbiota intestinal (Zalar et al., 2018). Los resultados de este trabajo demuestran que existen ciertas alteraciones en la microbiota intestinal cuando se presenta el MDD, resultados obtenidos a través del análisis de las secuencias del gen 16S del RNAr de la microbiota intestinal y que gracias a las tecnologías ómicas permiten identificar estas alteraciones así como identificar la diversidad microbiana y el posible impacto que están teniendo sobre el huésped (Socala et al., 2021).

La microbiota intestinal se caracteriza por ser una red compleja de interrelaciones positivas y negativas que afectan significativamente la salud del huésped, la cual se encuentra colonizada por microorganismos específicos ya que las condiciones del ecosistema como el pH, condiciones de oxígeno, acceso a nutrientes y la peristalsis intestinal variable en las diferentes secciones del tracto gastrointestinal empujan a que solo microorganismos adaptados a estas condiciones pueden coexistir (Góralczyk-Bińkowska et al., 2022). Por lo que, cualquier alteración en la composición y abundancia de las comunidades microbianas puede tener consecuencias negativas para la salud del huésped, como la pérdida de funciones o alteración de la homeostasis intestinal trayendo consigo problemas en el sistema inmune llevando a la disfunción del eje microbiota-intestino-cerebro (Yoo & Mazmanian, 2017). Encontramos una disminución significativa en la diversidad alfa en los pacientes con MDD antes del tratamiento en comparación con los CS, esto fue un resultado esperado ya que en diversos desórdenes psiquiátricos se ha reportado que la diversidad alfa tiende a disminuir (Nikolova et al., 2021), lo que podría proponer que la disminución de la diversidad alfa de la microbiota intestinal funciona como un posible biomarcador para la predicción de desórdenes psiquiátricos como el caso del MDD dado que la desregulación de la microbiota intestinal puede facilitar el desarrollo de estas enfermedades provocada por la disminución de la secreción de sustancias neurológicamente activas por parte de la microbiota intestinal (Prehn-Kristensen et al.,

2018, Li et al., 2022). Sin embargo, se tiene que destacar que dentro de las investigaciones la disminución de la diversidad alfa de la microbiota intestinal en el MDD no es criterio universalmente aceptado ya que no en todos los casos ésta disminuye (Thapa et al., 2021), incluso aumenta comparada con los controles del estudio (Ye et al., 2021). Esta inconsistencia en los resultados puede deberse a que no existe una uniformidad en la metodología y selección de participantes en los estudios, dado que factores biológicos como el sexo y edad de los participantes influyen en la diversidad microbiana debido a que la microbiota intestinal entre estos grupos es diferente per se (Prehn-Kristensen et al., 2018). A pesar de ello, la diversidad alfa sigue siendo el indicador más utilizado para evaluar la salud de la microbiota intestinal, puesto que la diversidad de la microbiota juega un papel importante en la estabilidad del ecosistema y en las funciones ecológicas, que al tener una mayor diversidad, la estabilidad aumenta (Gong et al., 2016).

En contraste, no encontramos diferencias significativas en la diversidad beta, basándonos en los resultados del NMDS y ANOSIM, de los pacientes con MDD en comparación con los CS. Los cambios en la diversidad beta de la microbiota intestinal de pacientes con trastornos psiquiátricos no está claro en la literatura (Thapa et al., 2021, Chung et al., 2019). A pesar de ello, observamos que la microbiota intestinal de los pacientes con MDD antes del tratamiento presentan una mayor abundancia de los géneros *Bacteroides*, *Dorea*, *Aerococcus* y *Roseburia* en comparación con los CS. El género *Bacteroides* es parte de la microbiota intestinal basal en humanos y suele tener efectos beneficiosos. Sin embargo, algunas especies de este género han mostrado capacidad patógena al causar translocación intestinal, que resulta en permeabilidad intestinal. Esto puede desencadenar inflamación, seguida de una diseminación que conduce a un estado de bacteriemia. En este estado, las bacterias, al ingresar al torrente sanguíneo, pueden alcanzar incluso el SNC al penetrar la barrera hematoencefálica (Zafar & Saier, 2021).

En otros estudios de MDD se ha encontrado una asociación significativa de este género (Cheng et al., 2020, Liu et al., 2022) y se ha observado que el trasplante de

microbiota fecal de ciertas especies de *Bacteroides* en ratones (*B. fragilis*, *B. uniformis* y *B. caccae*) conduce a que muestren comportamientos tendientes a la ansiedad y depresión, así como alteraciones en la neurogénesis del hipocampo así como un agotamiento del precursor de la serotonina, triptofano (Zhang et al., 2022b). Ciertas especies de *Bacteroides* son consideradas proinflamatorias, lo cual es un factor muy importante en el desarrollo de MDD; cuando las personas se encuentran en un periodo de estrés continuo puede llevar a que ciertos *Bacteroides* secreten lipopolisacáridos y exotoxinas, estimulando la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- α y IL-8, que a su vez pueden promover la permeabilidad intestinal, la alteración de la barrera hematoencefálica y activación de la microglía (Alexandrov et al., 2020). El género *Dorea* normalmente no se asocia con casos de MDD debido a su capacidad de fermentación de polisacáridos en AGCC (Yang et al., 2023, Dahl et al., 2020). Sin embargo, Zhang et al. (2021), describió la presencia de *Dorea* en casos de MDD moderados y severos. Es por ello, que la presencia y relación de *Dorea* en pacientes con MDD no está del todo clara en la literatura. De igual manera, el género *Aerococcus* no ha sido descrito en la literatura sobre su relación con el MDD, debido a que este género bacteriano es considerado más un patógeno de las vías urinarias en humanos (Rasmussen, 2016). El aumento de *Aerococcus* en MDD únicamente ha sido descrito en modelos de ratón (Sun et al., 2019). Por último, el género *Roseburia* tiene resultados contradictorios, debido a que en algunos casos aumenta su abundancia (Jiang et al., 2015) y en otros disminuye (Zheng et al., 2016, Kovtun et al., 2022) en la microbiota intestinal de pacientes con MDD. El género *Roseburia* al igual que el género *Dorea* participa en la producción de AGCC (Ye et al., 2021), por lo que su presencia tendría a relacionarse con efectos beneficiosos sobre el huésped y por lo tanto, no relacionarse con el MDD debido a su fisiopatología inflamatoria.

Por otra parte, los CS tienen una mayor abundancia de la familia Prevotellaceae y los géneros *Weissella*, *Faecalibacterium*, *Pediococcus* y *Anaerostipes* en comparación de los pacientes con MDD antes del tratamiento con antidepresivos. Estos grupos bacterianos tienen la particularidad de tener efectos beneficiosos para el huésped, promoviendo actividad antiinflamatoria mediante la fermentación y producción de

AGCC como el butirato (Teixeira et al., 2021, Ye et al., 2021, Li et al., 2021, Salli et al., 2019), ofreciendo cierta protección en el huésped al tener efectos antiinflamatorios por parte de la microbiota intestinal, contrario a lo que se observa en el MDD, el cual es asociado con respuestas inflamatorias crónicas (Liang et al., 2018). Por lo que fue un resultado esperado que tuvieran una mayor abundancia en los CS que en los pacientes con MDD.

Diversos autores proponen que la administración de antidepresivos puede tener un efecto sobre la composición y abundancia de la microbiota (Ait Chait et al., 2020, Lukić et al., 2019, Macedo et al., 2017). Sin embargo, en este trabajo no encontramos cambios significativos en la diversidad alfa en los pacientes de MDD antes y después de la administración de antidepresivos, indicando que los antidepresivos del tipo SSRI (citalopram, escitalopram y paroxetina) y SNRI (venlafaxina), que fueron los utilizados en los pacientes con MDD, no tienen un efecto directo sobre la riqueza de la microbiota intestinal. La disminución de la diversidad alfa de la microbiota intestinal debido a la administración de antidepresivos es variable y depende del mecanismo de acción de cada tipo de antidepresivos. Sin embargo, la acción antimicrobiana de cada antidepresivo no está del todo clara (Macedo et al., 2017). Incluso existe evidencia de que la diversidad alfa puede aumentar con el uso de antidepresivos del tipo SSRI (Liśkiewicz et al., 2019). Cabe destacar que no se pudieron medir los cambios en la diversidad en función de cada antidepresivos debido a que la información sobre qué tratamiento recibió cada paciente no fue proporcionada.

A diferencia de la diversidad alfa, sí se encontraron diferencias significativas en la diversidad beta, medida con un NMDS y ANOSIM, entre los pacientes con MDD antes y después de la administración de antidepresivos, sugiriendo que los antidepresivos utilizados pueden conducir a que exista una mayor diferencia entre las comunidades bacterianas locales. De igual manera, se ha reportado que ciertos antidepresivos del grupo de los SSRI pueden promover el cambio de la composición de comunidades (Ye et al., 2021). Buscando identificar qué taxones bacterianos cambian con la administración del tratamiento de antidepresivos en los pacientes con MDD,

observamos que después de las 8 semanas de tratamiento hay un aumento de la familia Prevotellaceae y disminución de Peptostreptococcaceae. Por otra parte, a nivel de género se observó un aumento de *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Pediococcus* así como una pérdida de *Escherichia-Shigella* y *Dorea*. En la literatura se ha reportado que antidepresivos del grupo SSRI tienen un efecto antimicrobiano, especialmente contra bacterias Gram positivas (Macedo et al., 2017, Munoz-Bellido et al., 2000). Sin embargo, este tipo de antidepresivos también puede inhibir el crecimiento de Gram negativas como el caso de *Escherichia coli*, especialmente los antidepresivos escitalopram y citalopram (Ait Chait et al., 2020). Caso contrario de los antidepresivos SNRI, que han mostrado no tener efectos antimicrobianos, especialmente la venlafaxina (Ait Chait et al., 2020). Esto nos podría indicar que los cambios en la composición de las comunidades bacterianas que observamos fueron promovidas por los antidepresivos del tipo SSRI administrados. Así mismo, encontramos que el aumento de ciertos géneros después del tratamiento se asocian con bacterias con efectos antiinflamatorios mediante la producción de AGCC como es el butirato (Taraskina et al., 2022, Berk et al., 2013, Li et al., 2021). Estos resultados nos pueden sugerir que la administración de antidepresivos del tipo SSRI pueden promover la restauración de la microbiota intestinal en pacientes con MDD. Al tener un efecto antimicrobiano, podrían restablecer el equilibrio de la microbiota intestinal y restablecer la homeostasis intestinal, que conlleva a una mejoría en el eje microbiota-cerebro-intestino (Macedo et al., 2017). Estos resultados se respaldan con lo obtenido en el trabajo de Ye et al. (2021), en el que encontraron que la administración de un antidepresivo del tipo SSRI promovió la restauración de la microbiota intestinal tras el aumento de la abundancia de géneros bacterianos con efectos benéficos y a su vez la mejoría de los síntomas depresivos, de igual manera Sun et al. (2019) reportaron que los antidepresivos del tipo SSRI pueden promover la restauración de la disbiosis inducida por la estimulación del estrés.

Además de identificar la composición de la microbiota intestinal de los pacientes con MDD, buscamos vincular los efectos del MDD sobre las comunidades bacterianas en el intestino de la población estudiada, el cual se realizó mediante un análisis LEfSe. Esto

nos permitió identificar diferencias significativas en la abundancia con una relevancia biológica entre los grupos. Encontramos que *Intestinibacter* y *Eggerthella* tuvieron una mayor abundancia significativa en los pacientes con MDD antes del tratamiento en comparación a los CS. Este análisis sugiere que *Intestinibacter* y *Eggerthella* como biomarcadores en MDD. *Eggerthella* se ha asociado con el desarrollo de MDD debido a su relación con inflamación gastrointestinal y el agotamiento del butirato, que es clave para el mantenimiento de la mucosa intestinal y reducción de la inflamación (Nikolova et al., 2021). Este es uno de los géneros bacterianos que más se encuentra en estudios de la microbiota intestinal en personas con depresiones severas (Radjabzadeh et al., 2022). Borkent et al. (2022) lo había propuesto como un posible marcador de depresión y objetivo para el tratamiento, por lo que los resultados en este trabajo sustentan esta propuesta. Por otro lado, *Intestinibacter* también se ha relacionado en MDD (Gonzalez-Mercado et al., 2021, Zhang et al., 2022a), y en problemas en la calidad del sueño (Zhang et al., 2021). Sin embargo, no se ha encontrado cómo afecta en el desarrollo del MDD.

De igual manera, se buscó asociar el efecto de los antidepresivos del grupo SSRI y SNRI utilizados sobre las comunidades bacterianas de la microbiota intestinal de los pacientes deprimidos después de 8 semanas de tratamiento. Encontramos una mayor abundancia significativa de *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Butyricoccus* en los pacientes con tratamiento de antidepresivos en comparación con los pacientes antes del tratamiento. Como se mencionó anteriormente, *Faecalibacterium* muestra efectos benéficos sobre el huésped debido a su relación con la producción de butirato (Ye et al., 2021), al igual que *Butyricoccus* (Zhou et al., 2020). Por otra parte, un aumento de *Agathobacter* se ha reportado en casos de remisión de depresión geriátrica (Lee et al., 2021). Estos resultados sugieren, que estos géneros bacterianos pueden funcionar como biomarcadores de que existe una respuesta eficaz al tratamiento contra MDD debido a una recuperación de la microbiota intestinal, así como una remisión de la enfermedad.

Por último, se procuró determinar qué procesos metabólicos estaban siendo aportados por la microbiota intestinal de pacientes con MDD en comparación con los CS. No obstante, no se observaron diferencias significativas en la abundancia de las vías metabólicas identificadas entre ambos grupos. En contraste, al analizar las vías metabólicas en pacientes con MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos, se reveló una disminución significativa en la abundancia de procesos de fermentación y procesos patológicos para el ser humano en las muestras de microbiota intestinal después del tratamiento. Esta disminución podría vincularse a la reducción en la abundancia de ciertos géneros bacterianos, como *Dorea* y *Roseburia*, que mostraron una mayor presencia antes del tratamiento. Estos géneros se asocian a dietas ricas en carbohidratos fermentables, promoviendo el aumento de estos géneros que son capaces de degradar polisacáridos, oligosacáridos y azúcares (Dahl et al., 2020), y, por ende, aumentando los procesos de fermentación.

Por otro lado, la disminución de los procesos patógenos en pacientes con MDD después de recibir tratamiento con antidepresivos constituye una respuesta esperada de acuerdo a los resultados previos, en los cuales, se observó un aumento en la abundancia relativa de bacterias como *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Pediococcus*, así como una mayor abundancia diferencial significativa de *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Butyrivibrio* en los pacientes tras el tratamiento con antidepresivos. Estas bacterias estimulan la producción de butirato (Ye et al., 2021; Zhou et al., 2020; Li et al., 2021), el cual, a su vez, regula la expresión génica con efectos antiinflamatorios y anticancerígenos (Louis et al., 2010). Además, se evidenció una disminución en la abundancia de bacterias como *Escherichia-Shigella* y *Eggerthella* en estos pacientes después del tratamiento, las cuales presentan efectos proinflamatorios. *Escherichia-Shigella* ha sido asociada con una alta presencia de moléculas proinflamatorias como IL-6, CXCL2 y NLRP3 (Cattaneo et al., 2017), así como un aumento en el riesgo de síndrome de intestino irritable en infecciones recurrentes (Youn et al., 2016). Por otro lado, *Eggerthella* contribuye al agotamiento de butirato (Nikolova et al., 2021). Esto sugiere que la reducción de bacterias consideradas patógenas, con efectos proinflamatorios, y el aumento en la abundancia de bacterias beneficiosas

justifican la disminución de los procesos patógenos detectados. Es importante destacar que los antidepresivos del grupo SSRI desempeñan un papel crucial en estos resultados, ya que han demostrado poseer actividad antimicrobiana, generando un cambio en las comunidades de la microbiota intestinal. Se ha comprobado que la administración de antidepresivos SSRI reduce la abundancia de bacterias patógenas (Sun et al., 2019), respaldando así nuestros resultados obtenidos.

8. CONCLUSIONES

Los resultados de esta tesis contribuyen a investigaciones anteriores sobre la estrecha relación de la microbiota intestinal en el MDD. Encontramos que existe un aumento en la abundancia de bacterias proinflamatorias y una disminución de bacterias antiinflamatorias en la microbiota intestinal de los pacientes con MDD, así como una asociación de los géneros *Eggerthella* e *Intestinibacter* con el MDD, los cuales se podrían usar como marcadores de este trastorno. Por otra parte, encontramos que los antidepresivos del grupo SSRI tienen un efecto directo sobre las comunidades microbianas, debido a que promueven la restauración de la microbiota intestinal al impulsar el aumento de bacterias antiinflamatorias como el caso de *Faecalibacterium*, *Agathobacter* y *Butyricoccus*, las cuales mantienen una asociación sobre los pacientes con MDD después del tratamiento con antidepresivos. Estas bacterias pueden usarse como géneros importantes para identificar una respuesta eficaz al tratamiento del MDD. A nivel metabólico de la microbiota intestinal, detectamos cambios significativos en la abundancia de las vías metabólicas identificadas entre los pacientes con MDD antes y después del tratamiento con antidepresivos, específicamente al reducir los procesos patológicos en la microbiota intestinal de los pacientes después del tratamiento, comprobando una vez más que el uso de antidepresivos del grupo SSRI tiene relación sobre la restauración de la microbiota intestinal, al disminuir la abundancia de bacterias potencialmente patógenas. Al tener estos resultados con una relevancia biológica y respaldada por la literatura, se planea el uso de la herramienta el paquete microbiomeMarker como una alternativa rápida y de fácil manejo para la obtención de análisis de perfiles funcionales.

Existen limitaciones en este trabajo, como la falta de información sobre la alimentación de los participantes más allá de restricciones a vegetarianos/veganos, datos demográficos como el sexo de los participantes y el antidepresivo que fue utilizado en cada uno, los cuales son datos importantes para el análisis de resultados. De igual manera, el tamaño de la muestra de este estudio es limitado, por lo que se necesitan hacer estudios con un tamaño de muestra más grande. Finalmente, los análisis de la secuenciación del gen 16S del ARNr tienen algunas limitaciones en comparación con las secuenciaciones metagenómicas para el análisis de perfiles funcionales que pueden debilitar la validez de los resultados.

9. PERSPECTIVAS

Este trabajo identifica cambios importantes en la composición y metabolismo de la microbiota intestinal asociados al MDD. Teniendo esto en cuenta, resulta relevante la identificación de posibles biomarcadores que indiquen alteraciones en la microbiota intestinal asociada al MDD. Para esto, es necesario realizar un estudio experimental de los resultados obtenidos, se sugiere realizar estudios metagenómicos en poblaciones más grandes y mexicanas, debido a que la base de datos utilizada en este trabajo representan poblaciones chinas, así como tener una base de datos completa con su caracterización necesaria (sexo, edad y tipo de antidepresivo utilizados) con el objetivo de identificar si los biomarcadores propuestos en este trabajo realmente se encuentran en poblaciones mexicanas y con una abundancia diferencial significativa. Por otra parte, es necesario realizar estudios metabolómicos y fluxómicos para comprobar lo hipotetizado sobre los cambios en las vías metabólicas en los pacientes con MDD y CS. Todo esto con el objetivo de seguir generando información que nos ayude en el entendimiento del impacto de la microbiota intestinal en trastornos psiquiátricos como el MDD.

10. REFERENCIAS

Ahmad, A., Imran, M., & Ahsan, H. (2023). Biomarkers as Biomedical Bioindicators: Approaches and Techniques for the Detection, Analysis, and Validation of Novel Biomarkers of Diseases. *Pharmaceutics*, 15(6), 1630. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061630>

Alexandrov, P. N., Hill, J. M., Zhao, Y., Bond, T., Taylor, C. M., Percy, M. E., ... & Lukiw, W. J. (2020). Aluminum-induced generation of lipopolysaccharide (LPS) from the human gastrointestinal (GI)-tract microbiome-resident *Bacteroides fragilis*. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 203, 110886. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110886>

Alcántara-López, M. G., Gutiérrez-García, A. G., Hernández-Lozano, M., & Contreras, C. M. (2009). Trazodona, un antidepresivo atípico con propiedades ansiolíticas y sedantes. *Archivos de Neurociencias*, 14(4), 249-257.

Ait Chait, Y., Mottawea, W., Tompkins, T. A., & Hammami, R. (2020). Unravelling the antimicrobial action of antidepressants on gut commensal microbes. *Scientific Reports*, 10(1), 17878. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74934-9>

American Psychiatric Association. (2018). *DSM-5. Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (5th ed.)*. Editorial Médica Panamericana.

Bains N & Abdijadid S. (2022). *Major Depressive Disorder*. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559078/>

Barandouzi, Z. A., Starkweather, A. R., Henderson, W. A., Gyamfi, A., & Cong, X. S. (2020). Altered Composition of Gut Microbiota in Depression: A Systematic Review. *Frontiers in Psychiatry*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00541>

Berk, M., Williams, L. J., Jacka, F. N., O'Neil, A., Pasco, J. A., Moylan, S., ... & Maes, M. (2013). So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from?. *BMC medicine*, 11(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186%2F1741-7015-11-200>

Bollen, J., Trick, L., Llewellyn, D., & Dickens, C. (2017). The effects of acute inflammation on cognitive functioning and emotional processing in humans: A systematic review of experimental studies. *Journal of Psychosomatic Research*, 94, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2017.01.002>

Borkent, J., Ioannou, M., Laman, J. D., Haarman, B. C., & Sommer, I. E. (2022). Role of the gut microbiome in three major psychiatric disorders. *Psychological Medicine*, 52(7), 1222-1242. <https://doi.org/10.1017%2FS0033291722000897>

Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J. A., & Holmes, S. P. (2016). DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7), 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>

Cao Y, Dong Q, Wang D, Zhang P, Liu Y & Niu C (2022). “microbiomeMarker: an R/Bioconductor package for microbiome marker identification and visualization.” *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac438>.

Cattaneo, A., Cattane, N., Galluzzi, S., Provasi, S., Lopizzo, N., Festari, C., ... & Group, I. F. (2017). Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiology of aging*, 49, 60-68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.08.019>

Chen, P. (2019). Optimized Treatment Strategy for Depressive Disorder (Y. Fang, Ed.; Vol. 1180). *Springer Singapore*. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9271-0>

Cheng, S., Han, B., Ding, M., Wen, Y., Ma, M., Zhang, L., ... & Zhang, F. (2020). Identifying psychiatric disorder-associated gut microbiota using microbiota-related gene

set enrichment analysis. *Briefings in bioinformatics*, 21(3), 1016-1022.
<https://doi.org/10.1093/bib/bbz034>

Cheung, S. G., Goldenthal, A. R., Uhlemann, A.-C., Mann, J. J., Miller, J. M., & Sublette, M. E. (2019). Systematic Review of Gut Microbiota and Major Depression. *Frontiers in Psychiatry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00034>

Chung, Y. C. E., Chen, H. C., Chou, H. C. L., Chen, I. M., Lee, M. S., Chuang, L. C., ... & Kuo, P. H. (2019). Exploration of microbiota targets for major depressive disorder and mood related traits. *Journal of psychiatric research*, 111, 74-82.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.01.016>

Dahl, W. J., Mendoza, D. R., & Lambert, J. M. (2020). Diet, nutrients and the microbiome. *Progress in molecular biology and translational science*, 171, 237-263.
<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2020.04.006>

Dong, Z., Shen, X., Hao, Y., Li, J., Xu, H., Yin, L., & Kuang, W. (2022). Gut microbiome: A potential indicator for predicting treatment outcomes in major depressive disorder. *Frontiers in Neuroscience*, 16. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.813075>

Edinoff, A. N., Akuly, H. A., Hanna, T. A., Ochoa, C. O., Patti, S. J., Ghaffar, Y. A., Kaye, A. D., Viswanath, O., Urits, I., Boyer, A. G., Cornett, E. M., & Kaye, A. M. (2021). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Adverse Effects: A Narrative Review. *Neurology International*, 13(3), 387–401. <https://doi.org/10.3390/neurolint13030038>

Fava, M., & Kendler, K. S. (2000). Major depressive disorder. *Neuron*, 28(2), 335-341.
[https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)00112-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)00112-4)

Fontana, A., Manchia, M., Panebianco, C., Paribello, P., Arzedi, C., Cossu, E., Garzilli, M., Montis, M. A., Mura, A., Pisanu, C., Congiu, D., Copetti, M., Pinna, F., Carpiniello, B., Squassina, A., & Paziienza, V. (2020). Exploring the Role of Gut Microbiota in Major

Depressive Disorder and in Treatment Resistance to Antidepressants. *Biomedicines*, 8(9), 311.

Fowler, J. S., Logan, J., Azzaro, A. J., Fielding, R. M., Zhu, W., Poshusta, A. K., Burch, D., Brand, B., Free, J., Asgharnejad, M., Wang, G.-J., Telang, F., Hubbard, B., Jayne, M., King, P., Carter, P., Carter, S., Xu, Y., Shea, C., ... Apelskog-Torres, K. (2010). Reversible Inhibitors of Monoamine Oxidase-A (RIMAs): Robust, Reversible Inhibition of Human Brain MAO-A by CX157. *Neuropsychopharmacology*, 35(3), 623–631. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.167>

Franzosa, E. A., McIver, L. J., Rahnavard, G., Thompson, L. R., Schirmer, M., Weingart, G., Lipson, K. S., Knight, R., Caporaso, J. G., Segata, N., & Huttenhower, C. (2018). Species-level functional profiling of metagenomes and metatranscriptomes. *Nature Methods*, 15(11), 962–968. <https://doi.org/10.1038/s41592-018-0176-y>

Gong, D., Gong, X., Wang, L., Yu, X., & Dong, Q. (2016). Involvement of reduced microbial diversity in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Research and Practice*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6951091>

Gonzalez-Mercado, V. J., Lim, J., Saligan, L. N., Perez, N., Rodriguez, C., Bernabe, R., ... & Aouizerat, B. (2021). Gut microbiota and depressive symptoms at the end of CRT for rectal cancer: A cross-sectional pilot study. *Depression Research and Treatment*, 2021. <https://doi.org/10.1155%2F2021%2F7967552>

Goswami, K., & Sanan-Mishra, N. (2021). RNA-seq for revealing the function of the transcriptome. In D. Bukhsh-Singh & R. Kumar-Pathak (Eds.), *Bioinformatics Methods and Applications* (105–129). Academic Press.

Góralczyk-Bińkowska, A., Szmajda-Krygier, D., & Kozłowska, E. (2022). The microbiota–gut–brain Axis in psychiatric disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11245. <https://doi.org/10.3390%2Fijms231911245>

Hajós, M., Fleishaker, J. C., Filipiak-Reisner, J. K., Brown, M. T., & Wong, E. H. F. (2006). The Selective Norepinephrine Reuptake Inhibitor Antidepressant Reboxetine: Pharmacological and Clinical Profile. *CNS Drug Reviews*, 10(1), 23–44. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2004.tb00002.x>

Hamilton, M. (1960). A RATING SCALE FOR DEPRESSION. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 23(1), 56–62. <https://doi.org/10.1136/jnnp.23.1.56>

Jandhyala, S. M. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*, 21(29), 8787. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>

Jiang, H., Ling, Z., Zhang, Y., Mao, H., Ma, Z., Yin, Y., Wang, W., Tang, W., Tan, Z., Shi, J., Li, L., & Ruan, B. (2015). Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.03.016>

Kelly, J. R., Borre, Y., O' Brien, C., Patterson, E., el Aidy, S., Deane, J., Kennedy, P. J., Beers, S., Scott, K., Moloney, G., Hoban, A. E., Scott, L., Fitzgerald, P., Ross, P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2016). Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 82, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.07.019>

Kassambara, A. (2023). *ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots*. <https://cran.r-project.org/web/packages/ggpubr/index.html>

Kintscher, U. (2012). Reuptake Inhibitors of Dopamine, Noradrenaline, and Serotonin. In H. G. Joost (Ed.), *Appetite Control (Handbook of Experimental Pharmacology 209)* (2012th ed., pp. 339–347). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-24716-3_15

Knuesel, T., & Mohajeri, M. H. (2021). The Role of the Gut Microbiota in the Development and Progression of Major Depressive and Bipolar Disorder. *Nutrients*, 14(1), 37. <https://doi.org/10.3390/nu14010037>

Kovtun, A. S., Averina, O. V., Angelova, I. Y., Yunes, R. A., Zorkina, Y. A., Morozova, A. Y., ... & Danilenko, V. N. (2022). Alterations of the Composition and Neurometabolic Profile of Human Gut Microbiota in Major Depressive Disorder. *Biomedicines*, 10(9), 2162. <https://doi.org/10.3390%2Fbiomedicines10092162>

Kuehner, C. (2017). Why is depression more common among women than among men? *The Lancet Psychiatry*, 4(2), 146–158. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30263-2](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30263-2)

Lahti, L. & Shetty (2019). *microbiome R package*. <http://microbiome.github.io>

Lee, S. M., Dong, T. S., Krause-Sorio, B., Siddarth, P., Milillo, M. M., Lagishetty, V., ... & Lavretsky, H. (2022). The intestinal microbiota as a predictor for antidepressant treatment outcome in geriatric depression: a prospective pilot study. *International psychogeriatrics*, 34(1), 33-45. <https://doi.org/10.1017/S1041610221000120>

Lee, S., Jeong, J., Kwak, Y., & Park, S. K. (2010). Depression research: where are we now? *Molecular Brain*, 3(1), 8. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-8>

Li, Z., Song, Q., Wang, M., Ren, J., Liu, S., & Zhao, S. (2021). Comparative genomics analysis of *Pediococcus acidilactici* species. *Journal of Microbiology*, 59, 573-583. <https://doi.org/10.1007/s12275-021-0618-6>

Li, Z., Zhou, J., Liang, H., Ye, L., Lan, L., Lu, F., ... & Huang, J. (2022). Differences in alpha diversity of gut microbiota in neurological diseases. *Frontiers in Neuroscience*, 16. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.879318>

Liang, S., Wu, X., Hu, X., Wang, T., & Jin, F. (2018). Recognizing Depression from the Microbiota–Gut–Brain Axis. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(6), 1592. <https://doi.org/10.3390/ijms19061592>

Louca, S., Parfrey, L. W., & Doebeli, M. (2016). Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome. *Science*, *353*(6305), 1272-1277. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4507>

Louis, P., Young, P., Holtrop, G., & Flint, H. J. (2010). Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA: acetate CoA-transferase gene. *Environmental microbiology*, *12*(2), 304-314. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02066.x>

Lim, R., Cabatbat, J. J. T., Martin, T. L. P., Kim, H., Kim, S., Sung, J., Ghim, C.-M., & Kim, P.-J. (2020). Large-scale metabolic interaction network of the mouse and human gut microbiota. *Scientific Data*, *7*(1), 204. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-0516-5>

Liu, C., Cui, Y., Li, X., & Yao, M. (2021). microeco: an R package for data mining in microbial community ecology. *FEMS microbiology ecology*, *97*(2), fiae255. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae255>

Liu, P., Gao, M., Liu, Z., Zhang, Y., Tu, H., Lei, L., ... & Zhang, K. (2022). Gut microbiome composition linked to inflammatory factors and cognitive functions in first-episode, drug-naive major depressive disorder patients. *Frontiers in Neuroscience*, *15*, 800764. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.800764>

Liśkiewicz, P., Pełka-Wysiecka, J., Kaczmarczyk, M., Łoniewski, I., Wroński, M., Bąba-Kubiś, A., ... & Samochowiec, J. (2019). Fecal microbiota analysis in patients going through a depressive episode during treatment in a psychiatric hospital setting. *Journal of clinical medicine*, *8*(2), 164. <https://doi.org/10.3390/jcm8020164>

Lukić, I., Getselter, D., Ziv, O., Oron, O., Reuveni, E., Koren, O., & Elliott, E. (2019). Antidepressants affect gut microbiota and *Ruminococcus flavefaciens* is able to abolish their effects on depressive-like behavior. *Translational Psychiatry*, 9(1), 133. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0466-x>

Macedo, D., Filho, A. J. M. C., Soares de Sousa, C. N., Quevedo, J., Barichello, T., Júnior, H. V. N., & Freitas de Lucena, D. (2017). Antidepressants, antimicrobials or both? Gut microbiota dysbiosis in depression and possible implications of the antimicrobial effects of antidepressant drugs for antidepressant effectiveness. *Journal of Affective Disorders*, 208, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.09.012>

Malhi, G. & Mann, J. (2018). Depression. *Lancet*, 392 (10161): 2299-2312. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31948-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31948-2)

Manchia, M., Pisanu, C., Squassina, A., & Carpiniello, B. (2020). Challenges and Future Prospects of Precision Medicine in Psychiatry. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine, Volume 13*, 127–140.

McLaren, Michael R., & Callahan, Benjamin J. (2021). Silva 138.1 prokaryotic SSU taxonomic training data formatted for DADA2 [Data set]. *Zenodo*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4587955>

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLoS ONE*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>

Moraczewski, J., & Aedma, K. K. (2022). Tricyclic Antidepressants. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557791/>

Munoz-Bellido, J. L., Munoz-Criado, S., & Garcia-Rodríguez, J. A. (2000). Antimicrobial activity of psychotropic drugs: selective serotonin reuptake inhibitors. *International journal of antimicrobial agents*, 14(3), 177-180. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(99\)00154-5](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(99)00154-5)

Naseribafrouei, A., Hestad, K., Avershina, E., Sekelja, M., Linløkken, A., Wilson, R., & Rudi, K. (2014). Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterology & Motility*, 26(8), 1155–1162. <https://doi.org/10.1111/nmo.12378>

Nikolova, V. L., Smith, M. R. B., Hall, L. J., Cleare, A. J., Stone, J. M., & Young, A. H. (2021). Perturbations in Gut Microbiota Composition in Psychiatric Disorders: A Review and Meta-analysis. *JAMA psychiatry*, 78(12), 1343–1354. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2021.2573>

Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., ..., Weedon, J. (2022). *vegan: Community Ecology Package*. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Ortega, M. A., Alvarez-Mon, M. A., García-Montero, C., Fraile-Martinez, O., Guijarro, L. G., Lahera, G., Monserrat, J., Valls, P., Mora, F., Rodríguez-Jiménez, R., Quintero, J., & Álvarez-Mon, M. (2022). Gut Microbiota Metabolites in Major Depressive Disorder—Deep Insights into Their Pathophysiological Role and Potential Translational Applications. *Metabolites*, 12(1), 50. <https://doi.org/10.3390/metabo12010050>

Page, M. E. (2006). The Promises and Pitfalls of Reboxetine. *CNS Drug Reviews*, 9(4), 327–342. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2003.tb00258.x>

Pagès, H., Aboyou, P., Gentleman, R. & DebRoy, S. (2023). Biostrings: Efficient manipulation of biological strings. *R package version 2.68.1*, <https://bioconductor.org/packages/Biostrings>.

Pagnin, D., de Queiroz, V., Pini, S., & Cassano, G. B. (2004). Efficacy of ECT in Depression: A Meta-Analytic Review. *The Journal of ECT*, 20(1), 13–20. <https://doi.org/10.1097/00124509-200403000-00004>

Pérez-Cobas, A. E., Gomez-Valero, L., & Buchrieser, C. (2020). Metagenomic approaches in microbial ecology: an update on whole-genome and marker gene sequencing analyses. *Microbial genomics*, 6(8). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000409>

Prehn-Kristensen, A., Zimmermann, A., Tittmann, L., Lieb, W., Schreiber, S., Baving, L., & Fischer, A. (2018). Reduced microbiome alpha diversity in young patients with ADHD. *PloS one*, 13(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200728>

Preskorn, S. H., Ross, R., & Stanga, C. Y. (2004). *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors* (pp. 241–262). https://doi.org/10.1007/978-3-642-18500-7_9

Radjabzadeh, D., Bosch, J. A., Uitterlinden, A. G., Zwinderman, A. H., Ikram, M. A., van Meurs, J. B. J., Luik, A. I., Nieuwdorp, M., Lok, A., van Duijn, C. M., Kraaij, R., & Amin, N. (2022). Gut microbiome-wide association study of depressive symptoms. *Nature Communications*, 13(1), 7128. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34502-3>

Rasmussen, M. (2016). Aerococcus: an increasingly acknowledged human pathogen. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(1), 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.09.026>

Salli, K., Lehtinen, M. J., Tiihonen, K., & Ouwehand, A. C. (2019). Xylitol's health benefits beyond dental health: a comprehensive review. *Nutrients*, 11(8), 1813. <https://doi.org/10.3390%2Fnu11081813>

Sanada, K., Nakajima, S., Kurokawa, S., Barceló-Soler, A., Ikuse, D., Hirata, A., Yoshizawa, A., Tomizawa, Y., Salas-Valero, M., Noda, Y., Mimura, M., Iwanami, A., & Kishimoto, T. (2020). Gut microbiota and major depressive disorder: A systematic

review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 266, 1–13.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.01.102>

Santomauro, D. F., Mantilla Herrera, A. M., Shadid, J., Zheng, P., Ashbaugh, C., Pigott, D. M., Abbafati, C., Adolph, C., Amlag, J. O., Aravkin, A. Y., Bang-Jensen, B. L., Bertolacci, G. J., Bloom, S. S., Castellano, R., Castro, E., Chakrabarti, S., Chattopadhyay, J., Cogen, R. M., Collins, J. K., ... Ferrari, A. J. (2021). Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. *The Lancet*, 398(10312), 1700–1712. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02143-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02143-7)

Secretaria de Salud. (2023). 008. *En México, 3.6 millones de personas adultas padecen depresión.* Gobierno de México.
<https://www.gob.mx/salud/prensa/008-en-mexico-3-6-millones-de-personas-adultas-padecen-depresion?idiom=es>

Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W. S., & Huttenhower, C. (2011). Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome biology*, 12, 1-18

Servicios de Atención Psiquiátrica. (2022). *2º Diagnóstico Operativo de Salud Mental y Adicciones.*
<https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/730678/SAP-DxSMA-Informe-2022-rev07jun2022.pdf>

Shao, W., Zheng, Y., Li, Q., Shao, K., Zhao, F., Guan, L., Zhang, Z., & Li, F. (2022). Evaluation of Electroconvulsive Therapy in Adolescents With Major Depressive and Bipolar Disorders: A Retrospective Analysis. *The Journal of ECT*.
<https://doi.org/10.1097/YCT.0000000000000894>

Shelton, R. C. (2018). Serotonin and Norepinephrine Reuptake Inhibitors. In Macaluso, M. & Preskorn, S. (Eds.), *Antidepressants: From Biogenic Amines to New Mechanisms of Action* (1st ed., pp. 145–180). Springer Cham. https://doi.org/10.1007/164_2018_164

Xu, S., Zhan, L., Tang, W., Wang, Q., Dai, Z., Zhou, L., ... & Yu, G. (2023). MicrobiotaProcess: A comprehensive R package for deep mining microbiome. *The Innovation*, 4(2). <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2023.100388>

Socąła, K., Doboszewska, U., Szopa, A., Serefko, A., Włodarczyk, M., Zielińska, A., ... & Właż, P. (2021). The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacological Research*, 172, 105840. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105840>

Staff, S. R. A. S. (2011). *Using the Sra Toolkit to convert. Sra files into other formats*. Bethesda, MD: National Center for Biotechnology Information (US). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK158900/>

Sun, L., Zhang, H., Cao, Y., Wang, C., Zhao, C., Wang, H., ... & Nie, Y. (2019). Fluoxetine ameliorates dysbiosis in a depression model induced by chronic unpredicted mild stress in mice. *International journal of medical sciences*, 16(9), 1260. <https://doi.org/10.7150%2Fijms.37322>

Taraskina, A., Ignatyeva, O., Lisovaya, D., Ivanov, M., Ivanova, L., Golovicheva, V., ... & Yudin, S. (2022). Effects of traumatic brain injury on the gut microbiota composition and serum amino acid profile in rats. *Cells*, 11(9), 1409. <https://doi.org/10.3390%2Fcells11091409>

Teixeira, C. G., Fusieger, A., Milião, G. L., Martins, E., Drider, D., Nero, L. A., & de Carvalho, A. F. (2021). Weissella: An emerging bacterium with promising health

benefits. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(4), 915-925.
<https://doi.org/10.1007/s12602-021-09751-1>

Thapa, S., Sheu, J. C., Venkatachalam, A., Runge, J. K., Luna, R. A., & Calarge, C. A. (2021). Gut microbiome in adolescent depression. *Journal of Affective Disorders*, 292, 500-507. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2021.05.107>

Uher, R., Payne, J. L., Pavlova, B., & Perlis, R. H. (2014). MAJOR DEPRESSIVE DISORDER IN DSM-5: IMPLICATIONS FOR CLINICAL PRACTICE AND RESEARCH OF CHANGES FROM DSM-IV. *Depression and Anxiety*, 31(6), 459-471. <https://doi.org/10.1002/da.22217>

Verduijn, J., Verhoeven, J. E., Milaneschi, Y., Schoevers, R. A., van Hemert, A. M., Beekman, A. T. F., & Penninx, B. W. J. H. (2017). Reconsidering the prognosis of major depressive disorder across diagnostic boundaries: full recovery is the exception rather than the rule. *BMC Medicine*, 15(1), 215. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0972-8>

Vos, T., Barber, R. M., Bell, B., Bertozzi-Villa, A., Biryukov, S., Bolliger, I., Charlson, F., Davis, A., Degenhardt, L., Dicker, D., Duan, L., Erskine, H., Feigin, V. L., Ferrari, A. J., Fitzmaurice, C., Fleming, T., Graetz, N., Guinovart, C., Haagsma, J., ... Murray, C. J. (2015). Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, 386(9995), 743-800. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60692-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60692-4)

Wang, Z., Ma, X., & Xiao, C. (2019). Standardized Treatment Strategy for Depressive Disorder. In Y. Fang (Ed.), *Depressive Disorders: Mechanisms, Measurement and Management* (1st ed., Vol. 1180, pp. 193-199). Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-32-9271-0>

Watanabe, N., Omori, I., Nakagawa, A., Cipriani, A., Barbui, C., McGuire, H., Churchill, R., & Furukawa, T. A. (2007). Mirtazapine versus other anti-depressive agents for depression. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006528>

Wickham H (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.

Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Pedersen, T., Miller, E., Bache, S., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D., Spinu, V., ... Yutani, H. (2019). Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 4(43), 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>

Willner, P., Scheel-Krüger, J., & Belzung, C. (2013). The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2331–2371. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.12.007>

World Health Organization. (2008). *The global burden of disease : 2004 update*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43942>

World Health Organization. (2021a). *Depression*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>

World Health Organization. (2021b). *Suicide*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/suicide>

World Health Organization. (2022). *Mental disorders*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>

Xie, Y., Cheng, J. & Tan, X. (2023). *DT: A Wrapper of the JavaScript Library 'DataTables'*. <https://CRAN.R-project.org/package=DT>

Yang, Y., Mori, M., Wai, K. M., Jiang, T., Sugimura, Y., Munakata, W., ... & Ihara, K. (2023). The Association between Gut Microbiota and Depression in the Japanese Population. *Microorganisms*, 11(9), 2286. <https://doi.org/10.3390%2Fmicroorganisms11092286>

Yano, J. M., Yu, K., Donaldson, G. P., Shastri, G. G., Ann, P., Ma, L., Nagler, C. R., Ismagilov, R. F., Mazmanian, S. K., & Hsiao, E. Y. (2015). Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*, 161(2), 264–276. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.047>

Ye, X., Wang, D., Zhu, H., Wang, D., Li, J., Tang, Y., & Wu, J. (2021). Gut microbiota changes in patients with major depressive disorder treated with vortioxetine. *Frontiers in psychiatry*, 12, 641491. <https://doi.org/10.3389%2Ffpsyt.2021.641491>

Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., & Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(5), 1613. <https://doi.org/10.1099%2Fijsem.0.001755>

Youn, Y. H., Kim, H. C., Lim, H. C., Park, J. J., Kim, J. H., & Park, H. (2016). Long-term clinical course of post-infectious irritable bowel syndrome after shigellosis: a 10-year follow-up study. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 22(3), 490. <https://doi.org/10.5056%2Fjnm15157>

Ye, X., Wang, D., Zhu, H., Wang, D., Li, J., Tang, Y., & Wu, J. (2021). Gut microbiota changes in patients with major depressive disorder treated with vortioxetine. *Frontiers in psychiatry*, 12, 641491.

Yoo, B. B., & Mazmanian, S. K. (2017). The Enteric Network: Interactions between the Immune and Nervous Systems of the Gut. *Immunity*, 46(6), 910–926. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.05.011>

Zafar, H., & Saier Jr, M. H. (2021). Gut Bacteroides species in health and disease. *Gut Microbes*, 13(1), 1848158. <https://doi.org/10.1080%2F19490976.2020.1848158>

Zalar, B., Haslberger, A., & Peterlin, B. (2018). THE ROLE OF MICROBIOTA IN DEPRESSION - A BRIEF REVIEW. *Psychiatria Danubina*, 30(2), 136–141.

Zhang, H., Liu, L., Cheng, S., Jia, Y., Wen, Y., Yang, X., ... & Zhang, F. (2022a). Assessing the joint effects of brain aging and gut microbiota on the risks of psychiatric disorders. *Brain Imaging and Behavior*, 16(4), 1504-1515. <https://doi.org/10.1007/s11682-022-00630-z>

Zhang, Q., Yun, Y., An, H., Zhao, W., Ma, T., Wang, Z., & Yang, F. (2021). Gut microbiome composition associated with major depressive disorder and sleep quality. *Frontiers in Psychiatry*, 12, 645045. <https://doi.org/10.3389%2Ffpsyt.2021.645045>

Zhang, Y., Fan, Q., Hou, Y., Zhang, X., Yin, Z., Cai, X., ... & Zheng, X. (2022b). Bacteroides species differentially modulate depression-like behavior via gut-brain metabolic signaling. *Brain, Behavior, and Immunity*, 102, 11-22. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2022.02.007>

Zheng, P., Zeng, B., Zhou, C., Liu, M., Fang, Z., Xu, X., ... & Xie, P. (2016). Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism. *Molecular psychiatry*, 21(6), 786-796. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.44>

Zhou, Y., Chen, C., Yu, H., & Yang, Z. (2020). Fecal microbiota changes in patients with postpartum depressive disorder. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 567268. <https://doi.org/10.3389%2Ffcimb.2020.567268>

Zhu H (2021). *kableExtra: Construct Complex Table with 'kable' and Pipe Syntax_*. R package version 1.3.4. <https://CRAN.R-project.org/package=kableExtra>