

Human microbiota association with immunoglobulin A and its participation in immune response

La asociación de la microbiota humana con la inmunoglobulina A y su participación en la respuesta inmunológica

Erick Saúl Sánchez-Salguero,¹ Leopoldo Santos-Argumedo¹

Abstract

Human microbiota is the aggregate of microorganisms that reside in our body. Its phylogenetic composition is related to the risk for suffering from inflammatory diseases and allergic conditions. Humans interact with a large number and variety of these microorganisms via the skin and mucous membranes. An immune protection mechanism is the production of secretory IgA (SIgA), which recognizes resident pathogenic microorganisms and prevents their interaction with host epithelial cells by means of immune exclusion. Formerly, it was thought that SIgA only function in mucous membranes was to recognize and exclude pathogens, but thanks to the use of massive sequencing techniques for human microbiota phylogenetic characterization, now we know that it can be associated with pathogenic and non-pathogenic microorganisms, an association that is important for functions the microbiota carries out in epithelia, such as regulating the capability of certain microbial species to settle on the skin and mucous membranes, and stimulation and regulation of the immune response and of the risk for the development of inflammatory problems, allergic conditions, autoimmune diseases, and even cancer. Established microbiota determines the type of bacterial species (and probably viral and protozoan species) that reside on the skin and mucous membranes, promoting microbial diversity.

Keywords: Secretory Immunoglobulin A; Microbiota; Immunity; Allergy; Skin and mucosal membranes

Este artículo debe citarse como: Sánchez-Salguero ES, Santos-Argumedo L. La asociación de la microbiota humana con la inmunoglobulina A y su participación en la respuesta inmunológica. Rev Alerg Mex. 2018;65(3): 264-278

ORCID

Erick Saúl Sánchez-Salguero, 0000-0002-4417-2993; Leopoldo Santos-Argumedo, 0000-0002-4772-0713

¹Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Departamento de Biomedicina Molecular, Ciudad de México, México

Correspondencia: Leopoldo Santos-Argumedo_
lesantos@cinvestav.mx

Recibido: 2018-07-05
Aceptado: 2018-07-06
DOI: 10.29262/ram.v65i3.519



Resumen

La microbiota humana es el conjunto de microorganismos que residen en nuestro cuerpo. Su composición filogenética está relacionada con el riesgo de padecer enfermedades inflamatorias y cuadros alérgicos. Los humanos interactuamos con una gran cantidad y variedad de estos microorganismos a través de la piel y las mucosas. Un mecanismo de protección inmunológica es la producción de la IgA secretora (IgAS), que reconoce los microorganismos patógenos residentes y evita su interacción con las células epiteliales del hospedero mediante la exclusión inmunológica. Se creía que la única función de la IgAS en las mucosas era reconocer y excluir a los patógenos, pero gracias a la secuenciación masiva para la caracterización filogenética de la microbiota humana ahora sabemos que puede estar asociada con microorganismos patógenos y no patógenos, asociación importante para las funciones que la microbiota lleva a cabo en los epitelios: regulación de la capacidad de ciertas especies microbianas para establecerse en la piel y en las mucosas, estimulación y regulación de la respuesta inmunológica, del riesgo de desarrollar problemas inflamatorios, cuadros alérgicos, enfermedades autoinmunes e, incluso, cáncer. La microbiota establecida determina las especies bacterianas (y probablemente también virales y de protozoarios) que residen en la piel y en las mucosas, promoviendo la diversidad microbiana.

Palabras clave: Secreción de inmunoglobulina A; Microbiota; Inmunidad; Alergia; Piel y mucosa

Abreviaturas y siglas

ADN, ácido desoxirribonucleico

ARNr, ácido ribonucleico ribosomal

Asn, asparagina

CJ, cadena J

Cys, cisteínas

Fc, fracción cristalizante

GPR43, receptor libre de los ácidos grasos 2

IgA, inmunoglobulina A

IgA1, inmunoglobulina A subtipo 1

IgA2, inmunoglobulina A subtipo 2

IgAd, IgA dimerica

IgAS, IgA secretora

IL, interleucina

Pb, pares de bases

pIgR, receptor de inmunoglobulinas poliméricas

Pro, prolina

SC, componente secretor

SCFA, ácidos grasos de cadena corta

Ser, serina

Tfh, linfocitos T cooperadores foliculares

TGF- β , factor de crecimiento transformante beta

Thr, treonina

Treg, linfocitos T reguladores

γ PGA, ácido poligamma glutámico

La inmunoglobulina A

Los humanos interactuamos constantemente con gran diversidad de microorganismos durante la vida. Los principales sitios de estas interacciones son las barreras epiteliales (piel y mucosas), las cuales presentan, en conjunto, una superficie de casi 400 m² de contacto directo con el exterior.¹ Los epitelios de las mucosas son tejidos que se caracterizan por una lámina propia formada por un tejido conectivo laxo subyacente. La lámina propia brinda sostén a la membrana basal, la cual a su vez se une con una

monocapa de células epiteliales polarizadas de tipo columnar estratificado no queratinizado. Estas células epiteliales se unen entre sí mediante uniones estrechas y representan la primera barrera física del cuerpo contra los microorganismos.

El cuerpo humano está formado, en promedio, por unas 10¹⁴ células propias. De acuerdo con estimaciones previas, la cantidad de células microbianas que residen en el cuerpo es 100 veces mayor que la proporción de células de origen humano.² Sin embargo, datos recientes, sugieren que en el cuerpo humano

hay tantos microorganismos como células humanas.³ Esta gran cantidad de microorganismos residentes requiere que el sistema inmunológico asociado con las barreras epiteliales, conocido como el tejido linfóide asociado con las mucosas sea capaz de proteger al cuerpo contra los patógenos potenciales y, al mismo tiempo, establecer los mecanismos de tolerancia necesarios frente a los microorganismos comensales.⁴

Uno de los factores más importantes en respuesta a los microorganismos residentes y el mantenimiento de la homeostasis en los epitelios es la inmunoglobulina A (IgA).⁵ La IgA es una glucoproteína descrita por primera vez en 1959 por Gugler y von Muralt,⁶ que pertenece a uno de los cinco isotipos de inmunoglobulina expresados en el humano. La IgA se encuentra principalmente en el suero y en las mucosas y se considera el primer mediador de la respuesta humoral en los epitelios de barrera.

A nivel sistémico, 97 % del total de la IgA se encuentra como IgA monomérica. La IgA pesa aproximadamente 160 kDa y está constituida por dos cadenas pesadas (H) de aproximadamente 55 kDa cada una, con cuatro dominios de inmunoglobulina (V_H , C_{H1} , C_{H2} y C_{H3}) y dos cadenas ligeras (L) de 25 kDa con dos dominios (V_L y C_L).⁷ En una molécula de IgA, las cadenas H y L son idénticas, confiriendo dos sitios idénticos de unión al antígeno. Al conjunto de los dominios V_L , C_L , C_H y C_{H1} se le conoce como la región de unión al antígeno y a la región compuesta por los dominios C_{H2} y los C_{H3} de las cadenas H se le conoce como la fracción cristalizante (Fc).⁷

En el humano existen dos genes de cadenas pesadas alfa ($\alpha 1$ y $\alpha 2$), que codifican para las dos subclases de IgA: la inmunoglobulina A subtipo 1 (IgA1) e inmunoglobulina A subtipo 2 (IgA2), respectivamente. La diferencia estructural más evidente entre los subtipos de IgA es la presencia de una secuencia de 13 a 16 aminoácidos en la región bisagra de la IgA1, rica en residuos de prolina (Pro), serina (Ser) y treonina (Thr),⁷ por lo cual esta región es blanco de O-glucosilaciones que le brindan rigidez conformacional para la asociación con su antígeno.⁸ La región bisagra de la IgA2 es más corta y no presenta residuos de Pro, Ser y Thr, por lo cual presenta una mayor flexibilidad conformacional.⁸ La IgA2 es rica en N-glucosilaciones en los residuos de asparagina distribuidos a lo largo de sus cadenas pesadas.⁹

El origen de la IgA se inicia con los linfocitos B maduros inexportos que salieron de la médula ósea e

ingresaron a las estructuras del tejido linfóide de las mucosas, a través de las vénulas endoteliales altas, y arriban a los sitios inductores para la interacción con su antígeno.¹⁰ Existen dos mecanismos para la activación de las células B y la inducción de su diferenciación hacia células plasmáticas productoras de IgA, según el tipo de antígeno. Así, podemos hablar de una respuesta T independiente y una dependiente.^{11,12}

La respuesta T independiente se lleva a cabo en los folículos linfoides aislados y en la lámina propia de los tractos epiteliales.¹² La diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas productoras de IgA se induce por el reconocimiento de los antígenos y la señalización de las IL-6, el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), la IL-5, la IL-10 y el ácido retinoico. Este ambiente de citocinas aumenta la expresión de la IL-10 y el TGF- β por las células dendríticas y los linfocitos T reguladores (Treg) residentes,¹³ promoviendo el cambio de isotipo a IgA. Este tipo de respuesta T independiente está más asociado con una respuesta contra las bacterias comensales residentes y generalmente la IgA que se produce es de baja afinidad.¹⁴

La respuesta T dependiente se origina preferentemente contra microorganismos patógenos y da como resultado una IgA de alta afinidad.¹⁴ La respuesta se inicia cuando las células con micropliegues (células M) transportan antígenos a la lámina propia, donde las células dendríticas captan y procesan los antígenos, para llevarlos a los nódulos linfoides donde activan las células T residentes. Estas células T CD4+ activadas expresan el receptor de quimiocina CXCR5 para migrar a la zona extrafolicular e interactuar con los linfocitos B que ya se han activado por antígeno. Esto permite la diferenciación de los linfocitos B a células plasmáticas de vida corta.^{12,13} Una porción de las células B migran al centro germinal, para iniciar el proceso de proliferación e interacción con los linfocitos T cooperadores foliculares (Tfh) y las células dendríticas foliculares. Estas interacciones generan la estructura histológica conocida como la reacción de centro germinal, sitio donde ocurre la hipermutación somática y la reacción de cambio de isotipo en los linfocitos B. Estos últimos pueden diferenciarse a células B de memoria¹⁵ o células plasmáticas productoras de IgA de vida larga.

La mayor parte de la IgA que se produce en las mucosas se encuentra en forma dimerica (IgAd). La IgAd consta de dos monómeros de IgA unidos en

sus fracciones Fc por la cadena J (CJ). La CJ es una proteína de 15 kDa que participa en la asociación de la IgAd con el receptor de inmunoglobulinas poliméricas (pIgR).¹⁶ Este receptor se expresa en la cara basolateral de las células epiteliales y se une en una proporción estequiométrica 1:1 con la IgAd. La IgAd unida al pIgR se endocita y se transporta a la cara apical del endotelio, por un proceso conocido como transcitosis.¹⁷ En la luz de la mucosa se lleva a cabo la escisión del pIgR, formando al producto de escisión conocido como el componente secretor (SC).¹⁸ Al complejo de la IgAd, unida covalentemente con el SC, se le conoce como IgA secretora (IgAS). La liberación del complejo de IgAS en la porción apical asegura que el transporte sea unidireccional (Figura 1).

La función efectora más conocida de la IgAS es la exclusión inmunológica.¹⁹ La IgA interactúa a través de la red epítipo/parátipo o por los residuos glucosídicos, con las moléculas de la superficie de los microorganismos.²⁰ Estas interacciones resultan en impedimentos estéricos que no permiten la unión de los microorganismos con los receptores expresados en la superficie de las células epiteliales y su posterior invasión a la mucosa. Estos microorganismos asociados con la IgAS son arrastrados hacia el exterior del cuerpo por el movimiento peristáltico y el moco. De esta manera, la IgA limita el crecimiento de bacterias patógenas para mantener una diversidad microbiana elevada.

Composición de la microbiota en el cuerpo humano

La microbiota es el conjunto de especies microbianas que se localizan en diferentes partes del cuerpo y cuya composición debe mantenerse constante durante un lapso determinado. La composición microbiana en cada sitio anatómico se calcula por la diversidad alfa y se define como la riqueza biológica o el número de especies presentes en un determinado hábitat.²¹

El inicio de las interacciones entre el humano con los microorganismos aún es tema de discusión, algunos autores sugieren que las relaciones humano-microbiota se inician durante el desarrollo intrauterino. Estudios recientes han reportado la presencia de ácido desoxirribonucleico (ADN) bacteriano en el líquido amniótico de mujeres clínicamente sanas y con embarazo a término.²² Una de las posibles hipótesis sugiere que, bajo la regulación hormonal

del embarazo, las uniones estrechas entre las células epiteliales intestinales son más laxas^{23,24} y los microorganismos en el tracto gastrointestinal de la madre podrían ser captados más fácilmente por las células presentadoras de antígeno. Estas células pueden migrar de la lámina propia a los sitios efectores distales, como la placenta, promoviendo la estimulación regulada del sistema inmunológico fetal^{25,26} a través de la interacción antigénica con las células del sincitiotrofoblasto y las células presentadoras de antígeno fetales.²⁷

La interacción temprana con los microorganismos tiene una función importante en el desarrollo del sistema inmunológico del producto.²⁸ Gómez de Agüero *et al.*²⁹ utilizaron ratones hembra libres de patógenos infectados con una cepa de *Escherichia coli* HA107E durante su embarazo. Los autores determinaron que la presencia de esta infección estaba relacionada con un aumento en el número de las células de tipo innato, una mayor producción del moco por las células caliciformes, una mayor expresión del pIgR por las células epiteliales y una mayor secreción de la IgA.

Sin embargo, es hasta el momento del nacimiento que el neonato comienza a interactuar de forma activa con una importante cantidad de microorganismos del medio exterior. Estos microorganismos son capaces de establecerse en las barreras epiteliales del neonato dentro de los primeros cinco minutos de vida.³⁰ Al conjunto de estos microorganismos se le conoce como la primera microbiota neonatal y su composición filogenética depende de la vía del nacimiento.^{31,32}

A través del parto natural, las bacterias que se establecen en las vías respiratorias altas, en el tracto gastrointestinal y en la piel del bebé, provienen del canal vaginal materno. Esta composición comprende a las bacterias grampositivas anaerobias, aerotolerantes, fermentadoras de lactato, del género *Lactobacillus*; y las bacterias gramnegativas anaerobias facultativas, no esporuladas, sacarolíticas y probióticas de los géneros *Prevotella*, *Serratia*, *Bifidobacterium*; y el filo *Proteobacteria*, que incluye a la familia de las *Enterobacterias* y algunas especies del grupo *Bacteroidetes*.³²

Mediante el parto por vía cesárea en los epitelios del recién nacido se establecen las bacterias propias de la piel y la mucosa oral de la madre. Estas bacterias son grampositivas, en forma de cocos o bacilos, anaerobias.

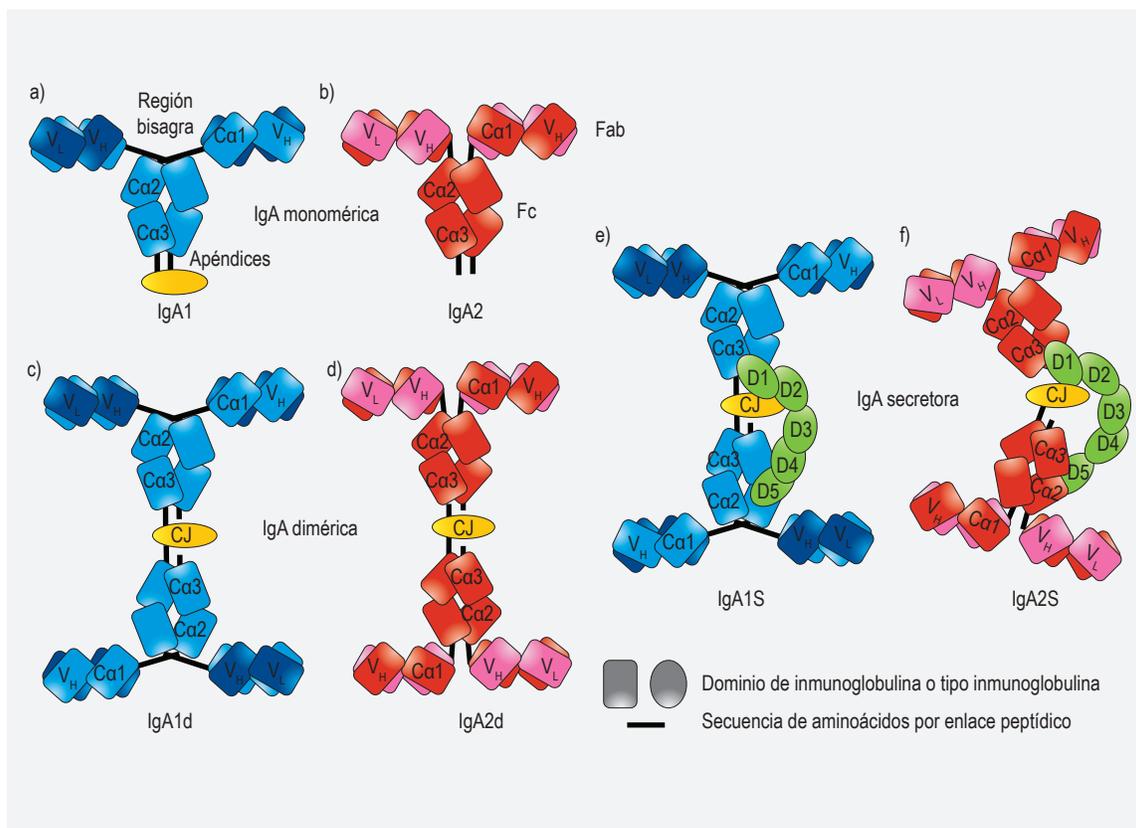


Figura 1. Estructura de la IgA monomérica, dimérica y de secreción. La IgA1 monomérica (azul, en sección a) presenta una conformación en forma de T por una región bisagra en la IgA2. La IgA mantiene la unión entre sus cadenas pesadas y ligeras mediante enlaces disulfuro entre residuos de cisteínas (Cys). Esta distribución varía entre subtipos: en la IgA1, los residuos Cys133 de cada dominio de Ca α 1 se unen con las cadenas ligeras, mientras que en la IgA2 se presentan dos residuos en Cys220 y Cys241 para la unión de las cadenas H y L, más un enlace disulfuro entre las cadenas pesadas por las Cys242. Ambas subclases de IgA presentan sitios de N-glicosilación: en la IgA1 están localizados en asparagina (Asn) 263, en el dominio Ca2 y en la Asn459, en el apéndice. La IgA2 tiene dos sitios de glucosilación: en la Asn166 en el dominio Ca α 1 y en la Asn 337 en el dominio Ca2. En la IgA2 tiene un dominio de unión en la Asn211 en el dominio Ca1. La región bisagra de la IgA1 es rica en carbohidratos unidos por enlaces O-glucosídicos. La capacidad de polimerización y formación de las IgA diméricas (secciones c y d) y la IgA secretora (secciones e y f) es posible gracias a que la IgA tiene un apéndice de 18 aminoácidos en el extremo C terminal con una cisteína en la posición 471 (Cys471), importante para su asociación con la CJ (amarillo). La CJ promueve el proceso de polimerización de la IgA por la unión de sus residuos Cys14 y Cys68 a las cisteínas de cada apéndice que solo se encuentran en las formas secretadas de las cadenas pesadas de IgA. Presenta un único sitio de N-glicosilación en la posición asparagina 48 (Asn48) que contribuye a la dimerización del complejo, pues participa en la correcta orientación espacial de la CJ con los extremos C de cada IgA. El componente secretor (verde) es el producto de escisión del receptor de inmunoglobulinas poliméricas. Este receptor es una molécula de 100 kDa con cinco dominios tipo inmunoglobulina numerados desde D1 a D5. El inicio de la interacción IgA-plgR requiere los primeros tres dominios del plgR (D1 a D3), mientras que los D4 y D5 contribuyen indirectamente a la afinidad. D1 es crítico para establecer uniones no covalentes entre los residuos Thr27 a Thr33 y ácido glutámico (Glu) 53 a Glu54 con el dominio Ca3 y la cadena J. Estas interacciones no covalentes entre el D1 del plgR y la región Fc de la IgA inician la asociación y la subsecuente formación de la unión covalente que se da entre la Cys311 del dominio Ca2 y la Cys467 del D5.

robias facultativas o anaerobias estrictas, que pertenecen a los géneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*.³² Algunos estudios epidemiológicos han demostrado que los niños nacidos por cesárea presentan mayor susceptibilidad a desarrollar enfermedades inflamatorias en el intestino y en el tracto respiratorio durante su vida futura.³³

Hasta hace algunos años se consideraba que el recién nacido se encontraba en un estado de inmadurez inmunológica propia de la edad. Actualmente sabemos que el sistema inmunológico neonatal se encuentra en un proceso de adaptación a las nuevas condiciones del medio ambiente,³⁴ generando una ventana de susceptibilidad a los patógenos. Durante esta etapa de la vida, la madre resulta ser el origen principal de esta carga antigénica,³⁵ por esta razón, el recién nacido requiere que su madre lo provea de una fuente de factores que le brinden protección y regulen el desarrollo de su sistema inmunológico. Esto se logra a través de la transferencia materna durante la lactancia.^{35,36}

Mientras el recién nacido crece comienza a interactuar más activamente con el ambiente exterior y con otras personas ajenas a la madre.³⁷ Esto permite que la diversidad y la cantidad microbianas aumenten de forma gradual, fomentando un desarrollo adecuado de la respuesta inmunológica y de la homeostasis en los epitelios del neonato. Estos cambios en la diversidad y cantidad de los microorganismos se mantienen durante los dos primeros años de vida, se modifica durante la edad escolar y se incrementa nuevamente a partir de la pubertad hasta la edad adulta.³⁷

Aunque la microbiota humana está conformada por organismos de todos los reinos taxonómicos,^{38,39} la microbiota bacteriana ha sido la más estudiada por proporción e importancia clínica. Las bacterias son microorganismos unicelulares, quimioheterótrofos en su mayoría y pueden ser aerobios o anaerobios, de entre 0.5 y 5 μm de longitud en forma de filamentos, cocos, bacilos, vibrios o espirilos, que pertenecen al reino Procarionte. Los principales filos bacterianos se pueden organizar en tres conjuntos: termófilos (bacterias extremófilas y de vida libre), grampositivos (que comprende los filos *Firmicutes* y *Actinobacteria*) y los *gracilicutes* (que contiene los filos gramnegativos *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Fusobacteria*).⁴⁰

La composición filogenética de la microbiota se modifica a lo largo de toda la vida. Esta variación

depende de características propias del hospedero como la edad, el sexo, el peso corporal, la raza, la dieta, el uso de cierto tipo de medicamentos, la actividad física, la ocupación laboral, la interacción con animales o mascotas, por estados fisiológicos específicos como el embarazo y la presencia de enfermedades infecciosas, entre otras.⁴⁰

Sin embargo, una porción de la microbiota puede mantenerse constante a lo largo del tiempo, debido a su gran capacidad de adaptación a las diferentes condiciones fisiológicas y fisicoquímicas de cada sitio anatómico. Estos géneros conforman el llamado núcleo del nicho ecológico y su composición filogenética es característica de cada barrera epitelial.⁴¹ Por otro lado, los géneros bacterianos secundarios son aquellos que pueden formar parte del núcleo del nicho ecológico, pero cuya composición filogenética es más variable a lo largo del tiempo ya que no poseen una capacidad de adaptación tan eficiente. Estos géneros bacterianos pueden aprovechar la actividad metabólica de las bacterias del nicho ecológico o adquirir genes relacionados con cierta capacidad adaptativa, a través de los mecanismos de transferencia horizontal como la transformación, la transducción y la conjugación.⁴²

Los mecanismos de transferencia horizontal permiten la generación de un nicho ecológico compuesto por microorganismos con la misma capacidad metabólica. A este fenómeno se le conoce en ecología como la "hipótesis evolutiva de la Reina Roja".^{42,43} Este modelo consiste en la presión evolutiva de una bacteria por adquirir una capacidad adaptativa nueva, la cual solo se comparte por el resto de los microorganismos presentes en el ecosistema para mantener el *status quo* con su entorno.

La alteración en la homeostasis intestinal por cambios en la composición bacteriana se le conoce como disbiosis. El proceso de disbiosis está relacionado con diferentes tipos de enfermedades en el hospedero como infecciones crónicas, asma, alergia, rinitis, eccema, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome del colon irritable, enfermedad de Crohn, infecciones intestinales crónicas y diferentes formas de alergias a diferentes sustancias y alimentos.⁴⁴

El uso excesivo de antibióticos para el tratamiento contra las infecciones gastrointestinales puede afectar la composición normal de la microbiota y permitir un aumento en la proporción de las bacterias resistentes como *Clostridium difficile*, generando

un proceso inflamatorio en el intestino.⁴⁵ La infección intestinal por cepas de *Clostridium difficile* resistentes a múltiples fármacos ha tenido resultados poco favorables con el tratamiento por antibióticos. Una alternativa desarrollada en los últimos años ha sido el tratamiento por trasplante fecal.

El trasplante fecal consiste en el aislamiento de la microbiota de heces de sujetos clínicamente sanos, los cuales son transferidos a los pacientes con problemas inflamatorios crónicos en el intestino. Entre las bacterias más importantes en estos trasplantes están las especies productoras de butirato del género *Clostridia* de los grupos IV y XVIa, las cuales están muy relacionadas con la acumulación de Treg en el intestino. Los pacientes tratados con el trasplante fecal han tenido una evolución muy favorable,⁴⁶ respaldando el papel de la microbiota en la regulación de la respuesta inmunológica y en el mantenimiento de la homeostasis.

El estudio de la microbiota ha permitido entender mejor la relación, composición, estructura, función e interacciones de los géneros bacterianos con el hospedero. Sin embargo, este estudio se vio limitado por muchos años debido a la necesidad de usar técnicas dependientes de cultivo bacteriano.⁴⁷

Relación de la microbiota humana con la IgA

La secuenciación del ADN es el conjunto de técnicas para la determinación del orden de los nucleótidos adenina, citosina, guanina y timina en un oligonucleótido de ADN. El uso de la secuenciación masiva para estudios filogenéticos en microbiomas ha permitido caracterizar las especies bacterianas, sin requerir del uso de medios de cultivo.⁴⁷ El microbioma es el conjunto de los genes bacterianos que componen la microbiota.

La caracterización filogenética bacteriana por secuenciación masiva requiere una región del genoma bacteriano de entre 50 y 1000 pares de bases (pb), que contenga regiones de ADN bien conservadas en todas las bacterias, para el uso de cebadores universales; y al mismo tiempo, de regiones hipervariables entre las especies bacterianas, para hacer una caracterización adecuada.⁴⁸

El gen más utilizado para la caracterización es el que codifica para la subunidad 16s del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr).^{49,50} El gen del ARNr 16s tiene una longitud de 1500 pb y su expresión

está bajo la regulación del promotor de ARNr.⁵¹ El 16s ARNr está constituido por secuencias bien conservadas, intercaladas entre nueve regiones hipervariables conocidas como V1 a V9. La región V1 tiene una longitud de 30 pb (69 a 99), la V2 presenta 105 pb (137-242), la V3, 195 pb (338-533), la región V4 tiene 106 pb (576-682), la V5 presenta 57 pb (822-879), la V6, 79 pb (967-1046), la V7 tiene 56 pb (1117-1173), la V8 presenta 51 pb (1243-1294) y la V9 tiene 30 pb (1435-1465).⁵² De las nueve regiones hipervariables, la V3 y la V4 son las más utilizadas porque presentan mayor variabilidad entre las especies bacterianas.⁵³

En años recientes, la elevada demanda de la secuenciación ha dado lugar a distintas tecnologías de secuenciación de alto rendimiento llamadas secuenciaciones de nueva generación. Entre estas tecnologías se encuentran la pirosecuenciación, Illumina® y la tecnología Ion Torrent®.^{54,55}

Al momento de realizar el estudio de la caracterización de los géneros y las especies bacterianas en cualquier muestra debe tenerse en cuenta dos conceptos: la profundidad y la cobertura.⁵⁶ Se entiende como profundidad al número de lecturas que se incluyen a un nucleótido determinado, presente en un segmento genético definido. Al momento de la comparación de las secuencias hay que tener en cuenta un valor de base de calidad de 50, para 99 % de significación estadística, con el fin de considerar que las amplificaciones se debieron a un nucleótido presente en la secuencia y no a un error de lectura durante la amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa.

La cobertura es el promedio de las lecturas de cada nucleótido, que se espera sea secuenciado. Para estudios filogenéticos se considera adecuado un número de copias entre 20 000 y 40 000 ampliaciones del fragmento del ADN. Por lo tanto, se debe tener una muestra de buena calidad y suficiente cantidad de ADN para amplificar. Para una clasificación taxonómica adecuada se requiere un umbral de similitud en la secuencia del 16s ARNr mayor a 95 % para el género y cercano a 98.7 % para la especie.⁵⁶

La cantidad de datos obtenidos por la secuenciación masiva excede la capacidad de la mayoría de los procesadores informáticos actuales. Por lo cual, el uso de herramientas bioinformáticas permite una forma más rápida y segura de analizar los datos. Para lle-

var a cabo un adecuado metaanálisis,⁵⁷ las secuencias obtenidas experimentalmente deben ser comparadas con bases de datos disponibles en línea, en formato FASTA, como la base de datos de secuencias genéticas de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos (GeneBank) y del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/16S/help.html>)

El estudio de la microbiota por secuenciación masiva ha permitido caracterizar filogenéticamente géneros y especies bacterianos presentes en diferentes tipos de muestras con mayor certeza. Algunos de estos géneros bacterianos comensales y potencialmente patógenos⁵⁸ pueden estar asociados con moléculas de la respuesta inmunológica como la IgA. Se sabe que esta interacción bacteria-IgA regula el establecimiento de los géneros bacterianos⁵⁹ y su función⁶⁰ en los epitelios de barrera.

En pacientes con inmunodeficiencia selectiva de IgA, Fadlallah J *et al.*⁶¹ determinaron que esta inmunoglobulina tiene un papel importante en la regulación de la presencia de cierto tipo de microorganismos comensales en el intestino. En estos estudios se demostró que las bacterias de los géneros *Bifidobacterium*, *Lactospiracea*, *Clostridia* y *Ruminococcus* y las clases *Eubacteria* y *Firmicutes*, se encontraban disminuidas en la ausencia de IgA.⁶² Los autores concluyeron que la asociación de la IgA con estas bacterias permite que estos géneros bacterianos puedan mantenerse por más tiempo en el intestino y lleven a cabo su función en la regulación de la homeostasis.

Las especies del género *Bifidobacterium*, *lactis* y *longum*, a partir del metabolismo de fermentación de polisacáridos complejos presentes en la dieta producen los ácidos grasos de cadena corta (SCFA) como el butirato, el acetato y el propionato, a lo largo de todo el tracto intestinal.^{63,64} Estos metabolitos pueden interactuar con el receptor de niacina acoplado a la proteína G 109a, expresado en la superficie de las células epiteliales.⁶⁵ Esto promueve la síntesis de IL-18 y la producción de algunos péptidos antimicrobianos como la proteína 3 gamma derivada de la regeneración por las células de Paneth de intestino delgado, la proteína 3 beta derivada de la regeneración por las células del intestino grueso y la producción de moco por aumento en la síntesis de la mucina 2 por las células caliciformes.

Los SCFA que fueron transportados a la lámina propia en el intestino durante el proceso fisiológico

de absorción de nutrientes⁶⁵ pueden interactuar con el receptor libre de los ácidos grasos 2 (GPR43), expresado en los linfocitos T vírgenes. Esto promueve la diferenciación de los linfocitos a un fenotipo de Treg en los tejidos epiteliales. La activación de la vía de señalización río abajo de GPR43, incrementa la expresión de la proteína caja *forkhead* 3, factor de transcripción que regula la expresión de los genes relacionados con la diferenciación al fenotipo Treg.^{14,65}

El género *Bifidobacterium* también participa en el aumento de la expresión de moléculas en las uniones estrechas como la proteína 1 de la zona *occludens* y la cadherina de las células epiteliales mediante dos mecanismos. El primero consiste en la síntesis bacteriana del triptófano a partir del indol. El triptófano estimula el aumento en la expresión del receptor nuclear X del pregnano.⁶⁶ El pregnano es un factor de transcripción relacionado con la regulación del factor nuclear NFκB. En el segundo mecanismo, el metabolismo del butirato afecta el consumo de oxígeno epitelial, induciendo un medio hipóxico ($PO_2 < 10$ mm Hg) y estabilizando al factor inducible por hipoxia 1.⁶⁷

Por los estudios de Fadlallah *et al.*⁶¹ se demostró que la IgA también regula la presencia de cierto tipo de microorganismos potencialmente patógenos como *Erythromicrobium ramosum*, *Acinetobacter*, *Haemophilus parainfluenza*, *Escherichia coli*, *Streptococcus sanguinis*, *Clostridia*, *Prevotella*, *Bacteroidetes* y *Eubacteria*. Estas bacterias aumentaban su crecimiento en ausencia de la IgA del intestino de pacientes con inmunodeficiencia selectiva de IgA.⁶¹ La cantidad de estos géneros bacterianos presentes en el intestino, regulada por la IgA, mantienen estimulado el sistema inmunológico de las mucosas para una adecuada homeostasis.

La presencia de los géneros bacterianos *Clostridia*, *Bacteroidetes*, *Prevotella* y *Firmicutes* estimula la respuesta adaptativa en los tractos epiteliales⁶⁸ mediante la activación de las células dendríticas. Las células dendríticas activadas producen IL-12 para la diferenciación de los linfocitos T CD4+ cooperadores tipo 1, IL-23 y la IL-1β para estimular a las células ILC-3.⁶⁸ Las células ILC-3 secretan IL-17 para la diferenciación de los linfocitos T CD4+ cooperadores tipo 17 (Th17). Los Th17 producen a IL-17A e IL-22, que estimulan la producción de péptidos antimicrobianos por las células epiteliales.⁶⁹

El polisacárido A de *Bacteroides fragilis* interacciona con el receptor tipo Toll 2 en la superficie de las células dendríticas. La célula dendrítica aumenta la producción de IL-10 y TGF- β para la diferenciación de las células Treg y de las células plasmáticas productoras de IgA.⁶⁹

Algunas especies de *Clostridium* actúan importantemente en las fases finales del metabolismo de los ácidos biliares como la taurina.⁷⁰ Estos metabolitos presentan actividad antimicrobiana haciendo a la membrana celular de las bacterias más lábil a los factores externos. La taurina también puede unirse al receptor de los farnesoides, expresado en células epiteliales, para regular la actividad del componente del inflamósoma NLRP6 y la producción de la IL-18. Lo anterior resulta en aumento en la síntesis de los péptidos antimicrobianos por las células epiteliales.⁷¹

El género *Lactobacillus* estimula la producción de IL-22 mediante la señalización del receptor de los arilhidrocarburos expresado en las células dendríticas. La presencia de esta interleucina en la lámina propia promueve la diferenciación de los linfocitos B a las células plasmáticas productoras de IgA.⁷² La presencia de las bacterias filamentosas segmentadas en el intestino induce la formación de los tejidos linfoides terciarios y la respuesta inmunológica contra las bacterias patógenas mediante la producción local de IgA y la diferenciación de los linfocitos Th17 residentes de la lámina propia.⁷³

Donaldson *et al.* demostraron que la asociación de las bacterias con la IgA también puede ser inducida por los propios microorganismos. Por ejemplo, *Bacteroides fragilis* es capaz de modificar las moléculas que expresa en su superficie para asociarse con una mayor avidéz con la IgA presente en intestino. Esto permite que la bacteria pueda colonizar el intestino de forma más eficiente y por un tiempo más prolongado.⁷⁴

El papel de la IgA como reguladora de la microbiota, por su asociación con las bacterias, inicia desde etapas muy tempranas en nuestra vida. Obermajer *et al.*⁷⁵ determinaron en un estudio epidemiológico en Eslovenia, realizado en mujeres sanas lactantes, que buena parte de las bacterias presentes en la leche, de los géneros *Enterobacteria*, *Clostridia*, *Bacteroides*, *Prevotella*, *Bifidobacterium* y *Staphylococcus epidermidis* se encontraban asociadas con anticuerpos, principalmente, al isotipo IgA.

Recientemente se han descrito ciertos antígenos bacterianos inmunodominantes en el reconocimiento por parte de la IgA. Obermajer *et al.*⁷⁵ también demostraron que la asociación de la IgA con *Staphylococcus aureus* fibronectina⁺ se presentó en 94 % de las muestras de leche de mujeres eslovenas; en 40 % de las muestras encontraron que las cepas bacterianas intimina⁺ (*Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis* y *Escherichia coli*) se encontraban libres. Por su parte, Okai *et al.*⁷⁶ determinaron que en el intestino de ratones, las bacterias que expresaban la enzima serina hidroximetil transferasa estaban más asociadas con la IgA y esta interacción inhibía el crecimiento de estos géneros bacterianos.

La IgA tiene una función reguladora contra géneros bacterianos que estimulan la respuesta inmunológica en condiciones inflamatorias. Palm *et al.*⁷⁷ demostraron que en pacientes con enfermedad inflamatoria del intestino, las bacterias colitogénicas estaban recubiertas con una mayor cantidad de IgAS que aquellas bacterias que regulan la homeostasis intestinal (Figura 2).

IgA, microbiota y alergia

Las alergias son parte de los problemas inflamatorios más comunes en la población abierta. A este tipo de enfermedades se les ha descrito una relación importante con la composición de la microbiota:⁷⁸ en pacientes con alergias, la microbiota intestinal presenta menor número de bacterias del género *Ruminococceae* (*Firmicutes* y *Clostridia*), comparados con individuos sanos.⁷⁹

En pacientes con dermatitis atópica se ha descrito una menor presencia de *Staphylococcus epidermidis* en la piel. Esta bacteria produce, mediante el metabolismo de los SCFA, al ácido poligamma glutámico (γ PGA). El γ PGA controla el desarrollo de *Staphylococcus aureus*, que se encuentra incrementado en la piel de pacientes con cuadros alérgicos. A nivel del intestino, el género *Bacillus* produce γ PGA estimulando el desarrollo de *Lactobacillus* en el intestino.⁸⁰ El género *Lactobacillus* está relacionado con la homeostasis intestinal.

La IgA también parece tener una asociación importante en el desarrollo de cuadros alérgicos. Diversos estudios han demostrado que al disminuir la expresión de la IgA y el pIgR, aumenta la severidad del cuadro alérgico. Kukkonen *et al.*⁸¹ de-

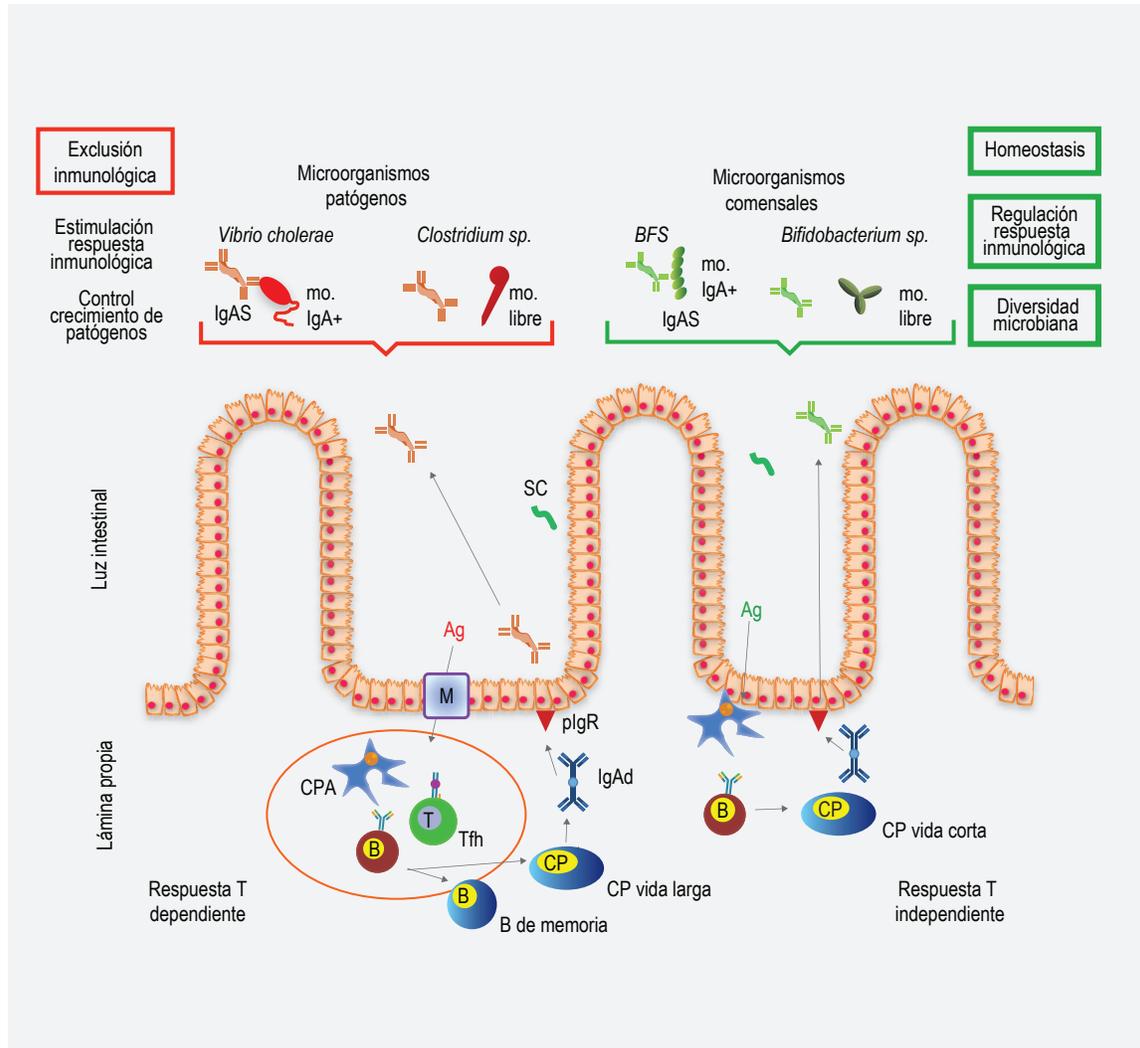


Figura 2. IgA en la regulación de las funciones de la microbiota intestinal. Los microorganismos comensales presentes en el intestino (*Bifidobacterium*) establecen una relación de homeostasis con el hospedero, estas bacterias pueden mantenerse controladas mediante los mecanismos de la respuesta innata como la barrera de células epiteliales, la producción de moco y de péptidos antimicrobianos. Dependiendo del tipo y especie de la bacteria, sus determinantes antigénicos pueden inducir la producción de una IgA de baja afinidad a partir de una respuesta T independiente. Sin embargo, por cambios en las condiciones específicas del epitelio, las bacterias potencialmente patógenas pueden incrementar su número e inducir un estado de disbiosis intestinal (*Clostridium*). Su incremento, en número, puede inducir una respuesta T dependiente para la producción de IgA de alta afinidad. Esta IgA regula el crecimiento de estas bacterias para mantener una diversidad microbiana adecuada y regular la disbiosis intestinal. El último tipo de relación de la IgA con la microbiota es la asociación con los microorganismos patógenos o sus factores de patogenicidad, como *Vibrio cholerae*, cuya presencia o establecimiento en el intestino induce una respuesta inmunológica de IgA de alta afinidad para neutralizar patógenos y eliminarlos por exclusión inmunológica. Ag = Antígeno, CG = Centro germinal, CP = Célula plasmática, CPA = Célula presentadora de antígeno, IgAS = Inmunoglobulina A secretora; mo. IgA+ = Microorganismo asociado con la IgA, mo. libre = Microorganismo no asociado con la IgA, pIgR = Receptor de inmunoglobulinas poliméricas, Tfh = linfocito T folicular cooperador.

terminaron que el uso de probióticos aumenta los niveles de IgA intestinal en niños de seis meses, lo cual mejora los síntomas de la alergia y los niveles de la IgE sistémica. Los autores concluyeron que la microbiota es un importante estímulo para la producción de la IgA y su papel en la regulación de cuadros alérgicos.

Dzidic *et al.* identificaron que los niños de 12 meses con problemas alérgicos tenían mayor proporción de microorganismos asociados con la IgA. Concluyeron que los niños con padecimientos alérgicos presentaban menor diversidad de su microbiota y menor número de bacterias asociadas con la IgA, como los géneros *Faecalibacterium* y *Bacteroidetes*, los cuales se encontraban libres de IgA en las muestras de estos pacientes. Así, una respuesta aberrante de IgA contra la microbiota intestinal parece influir importantemente en el desarrollo de la alergia y del asma.⁸²

Conclusiones

Aunque los conceptos de microbiota y de inmunoglobulina A no son nuevos, aún estamos empezando a entender los mecanismos que regulan su participación en la homeostasis de los tejidos epiteliales de barrera. El interés en el estudio de la microbiota y su asociación con la IgA se ha incrementado en los últimos años. La visión clásica de la IgA como una

molécula dedicada a la protección por su interacción con los microorganismos patógenos ha quedado rezagada.⁸³ Actualmente sabemos que la IgA tiene una participación más activa en la regulación de la homeostasis en las mucosas.

Diferentes estudios han demostrado la importancia de la IgA tanto en la protección de los tractos epiteliales como en la regulación de las funciones de la microbiota, debido a su asociación con determinados géneros bacterianos. La interacción IgA-microbiota regula la composición de los microorganismos, tanto de los géneros bacterianos patógenos como de los no patógenos residentes. Estos microorganismos están asociados con la estimulación del sistema inmunológico y con el mantenimiento de la homeostasis en los epitelios. Actualmente, gracias a las técnicas de secuenciación masiva estamos empezando a caracterizar y entender los mecanismos de la relación entre el cuerpo humano y la enorme cantidad y diversidad de microorganismos que lo habitan. Sin embargo, aún quedan muchas preguntas por responder.

Agradecimientos

Agradecemos el financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) al proyecto 140442. Erick Saúl Sánchez Salguero es y ha sido becario del Conacyt (592631).

Referencias

1. Aguilera-Montilla N, Pérez-Blas M, López-Santalla M, Martín-Villa JM. Mucosal immune system: a brief review. *Immunology*. 2004;23(2):207-216.
2. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol*. 1977 31:107-133. DOI: 10.1146/annurev.mi.31.100177.000543
3. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol*. 2016;14(8):e1002533. DOI: 10.1371/journal.pbio.1002533
4. Dongarrá M, Rizzello V, Muccio L, Fries W, Cascio A, Bonaccorsi I, et al. Mucosal immunology and probiotics. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013;13(1):19-26. DOI: 10.1007/s11882-012-0313-0
5. Strugnell R, Wijburg O. The role of secretory antibodies in infection immunity. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(9):656-667. DOI: 10.1038/nrmicro2384
6. Gugler E, Von-Muralt G. About studies of immunoelectrophoresis in breast milk proteins. *Mitt Schweiz Med Wochenschr*. 1959;89:925-929.
7. Woof JM, Russell MV. Structure and function relationships in IgA. *Mucosal Immunol*. 2011;4(6):590-597. DOI: 10.1038/mi.2011.39
8. Bonner A, Almogren A, Furtado PB, Kerr M, Perkins SJ. The nonplanar secretory IgA2 and near planar secretory IgA1 solution structures rationalize their different mucosal immune responses. *J Biol Chem*. 2009;284(8):5077-5087. DOI: 10.1074/jbc.M807529200

9. Mestecky J, Russell MW. Specific antibody activity, glycan heterogeneity and polyreactivity contribute to the protective activity of S-IgA at mucosal surfaces. *Immunol Lett.* 2009;124(2):57-62. DOI: 10.1016/j.imlet.2009.03.013
10. Hoffman W, Lakkis FG, Chalasani G. B cells, antibodies, and more. *Clon J AM Soc Nephrol.* 2016;11(1):137-154. DOI: 10.2215/CJN.09430915
11. Heineke, M, Von-Egmond M. Immunoglobulin A: magic bullet or Trojan horse? *Eur J Clin Invest.* 2017;47(2):184-192. DOI: 10.1111/eci.12716
12. Tsuji M, Suzuki K, Kinoshita K, Fagarasan S. Dynamic interactions between bacteria and immune cells leading to intestinal IgA synthesis. *Semin Immunol.* 2008;20(1):59-66. DOI: 10.1016/j.smim.2007.12.003
13. Hoespli RE, Wu D, Cook L, Levings MK. The environment of regulatory T cell biology: cytokines, metabolites, and the microbiome. *Front Immunol.* 2015;6(61):1-14. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00061
14. Pabst O. New concepts in the generation and functions of IgA. *Nat Rev Immunol.* 2012;12(12):821-832. DOI: 10.1038/nri3322
15. Kurokasi T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol.* 15(3):149-159. DOI: 10.1038/nri3802
16. Kaetzel C. The polymeric immunoglobulin receptor: bridging innate and adaptive immune responses at mucosal surfaces. *Immunol Rev.* 2005;206:83-99. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00278.x
17. Zuo T, Feng X, Zhang N, Xue C, Tang Q. Establishment of a functional secretory IgA transcytosis model system in vitro. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2015;99(13):5535-5545. DOI: 10.1007/s00253-015-6501-9
18. Pilette C, Ouadrhiri Y, Dimanche F, Vaerman JP, Sibille Y. Secretory component is cleaved by neutrophil serine proteinases, but its epithelial production is increased by neutrophils through NFκB and p38 mitogen activated protein kinase-dependent mechanisms. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003;28(4):485-498. DOI: 10.1165/rcmb.4913
19. Macpherson AJ, McCoy KD, Johansen FE, Brandtzaeg P. The immune geography of IgA induction and function. *Mucosal Immunol.* 2008;1(1):11-22. DOI: 10.1038/mi.2007.6
20. Duerkop B, Vaishnava S, Hooper LV. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Immunity.* 2009;31(3):368-376. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.08.009
21. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med.* 2016;8:51. DOI: 10.1186/s13073-016-0307-y
22. Perez-Muñoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, Walter J. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome.* 2017;5(1):48. DOI: 10.1186/s40168-017-0268-4
23. Mor G, Cardenas I. The immune system in pregnancy: a unique complexity. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):425-433. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00836.x
24. Thaiss CA, Levy M, Grosheva I, Zheng D, Soffer E, Blacher E, et al. Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection. *Science.* 2018;359(6382):1376-1383. DOI: 10.1126/science.aar3318
25. Rogosch T, Kerzel S, Hoss K, Hoersch G, Zemlin C, Heckmann M, et al. IgA response in preterm neonates shows little evidence of antigen-driven selection. *J Immunol.* 2012;189(11):5449-5456. DOI: 10.4049/jimmunol.1103347
26. Bordon Y. Early life immunology: fetal DCs-born to be mild. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(8):465. DOI: 10.1038/nri.2017.79
27. Kollmann TR, Kampmann B, Mazmanian SK, Marchant A, Levy O. Protecting the newborn and young infant from infectious diseases: lessons from immune ontogeny. *Immunity.* 2017;21;46(3):350-363. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.03.009
28. Bordon Y. Microbiota: Baby bugs can't stop the thugs. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(18):467. DOI: 10.1038/nri.2017.83
29. Gómez-De-Agüero M, Ganai-Vonarburg SC, Fuhrer T, Rupp S, Uchimura Y, Li H, et al. The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science.* 2016;351(6279):1296-1302. DOI: 10.1126/science.aad2571

30. Korpela K, Costea P, Coelho LP, Kandels-Lewis S, Willemssen G, Boomsma DI, et al. Selective maternal seeding and environment shape the human gut microbiome. *Genome Res.* 2018;28(4):561-568. DOI: 10.1101/gr.233940.117
31. Deweerdt S. How baby's first microbes could be crucial to future health? *Nature.* 2018;555:S18-S19. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/d41586-018-02480-6>
32. Von-Mutius E. The shape of the microbiome in early life. *Nat Med.* 2017;23(3):274-275. DOI: 10.1038/nm.4299
33. Blaser MJ. The theory of disappearing microbiota and the epidemics of chronic diseases. *Nat Rev Immunol.* 2017;17(8):461-463. DOI: 10.1038/nri.2017.77
34. Demirjian A, Levy O. Safety and efficacy of neonatal vaccination. *Eur J Immunol.* 2009;39(1):36-46. DOI: 10.1002/eji.200838620
35. Marchant A, Sadarangani M, Garand M, Dauby N, Verhasselt V, Pereira L, et al. Maternal immunisation: collaborating with mother nature. *Lancet Infect Dis.* 2017;17(7):e197-e208. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30229-3
36. Bardanzellu F, Fanos V, Reali A. "Omics" in human colostrum and mature milk: looking to old data with new eyes. *Nutrients.* 2017;9(8):E843. DOI: 10.3390/nu9080843
37. Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol Int.* 2017;66:515-522. DOI: 10.1016/j.alit.2017.07.010
38. Jiang TT, Shao TY, Ang WXG, Kinder JM, Turner LH, Pham G, et al. Commensal fungi recapitulate the protective benefits of intestinal bacteria. *Cell Host Microbe.* 2017;22(6):809-816. DOI: 10.1016/j.chom.2017.10.013
39. Partida-Rodríguez O, Serrano-Vázquez A, Nieves-Ramírez M, Morán P, Rojas L, Portillo T, et al. Human intestinal microbiota: interaction between parasites and the host immune response. *Arch Med Res.* 2017;48(8):690-700. DOI: 10.1016/j.arcmed.2017.11.015
40. Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med.* 2018;24(4):392-400. DOI: 10.1038/nm.4517
41. Clavel T, Gomes-Neto JC, Lagkouvardos I, Ramer-Tait AE. Deciphering interactions between the gut microbiota and the immune system via microbial cultivation and minimal microbiomes. *Immunol Rev.* 2017;279(1):8-22. DOI: 10.1111/imr.12578
42. Salazar N, De-Los-Reyes-Gavilán CG. Insights into microbe–microbe interactions in human microbial ecosystems: strategies to be competitive. *Front Microbiol.* 2016;7:1508. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01508
43. Ferreira A, Crook N, Gasparrini AJ, Dantas G. Multiscale evolutionary dynamics of host-associated microbiomes. *Cell Press.* 2018;172(6):1216-1227. DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.015
44. Van-Der-Lelle D, Taghavi S, Henry C, Gilbert JA. The microbiome as a source of new enterprises and job creation: considering clinical faecal and synthetic microbiome transplants and therapeutic regulation. *Microb Biotechnol.* 2017;10(1):4-5. DOI: 10.1111/1751-7915.12597
45. Kim S, Covington A, Pamer EG. The intestinal microbiota: antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunol Rev.* 2017;279(1):90-105. DOI: 10.1111/imr.12563
46. Relman DA. The human microbiome and the future practice of medicine. *JAMA.* 2015;314(11):1127-1128. DOI: 10.1001/jama.2015.10700
47. Cox M, Cookson W, Moffatt M. Sequencing the human microbiome in health and disease. *Hum Mol Genet.* 2013;22(R1):R88-R94. DOI: 10.1093/hmg/ddt398
48. Rintala A, Pietilä S, Munukka E, Eerola E, Pursiheimo J, Laiho A, et al. Gut microbiota analysis results are highly dependent on the 16 rRNA gene target region, whereas the impact of DNA extraction is minor. *J Biomol Tech.* 2017;28(1):19-30. DOI: 10.7171/jbt.17-2801-003
50. Brosius J, Palmer ML, Kennedy PJ, Noller HF. Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978;75(10):4801-4805.
51. Roy-Chaudhuri R, Kirthi N, Culver GM. Appropriate maturation and folding of 16S rRNA during 30S subunit biogenesis are critical for translational fidelity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(10):4567-4572. DOI: 10.1073/pnas.0912305107

52. Maeda M, Shimada T, Ishihama A. Strength and regulation of seven rRNA promoters in *Escherichia coli*. *PLoS ONE*. 2015;10(12):e0144697. DOI: 10.1371/journal.pone.0144697
53. Bodilis J, Nsigue-Meilo S, Besaury L, Quillet L. Variable copy number, intra-genomic heterogeneities and lateral transfers of the 16S rRNA gene in *Pseudomonas*. *PLoS One*. 2012;7(4):e35647. DOI: 10.1371/journal.pone.0035647
54. Yang B, Wang Y, Qian PY. Sensitivity and correlation of hypervariable regions in 16S rRNA genes in phylogenetic analysis. *BMC Bioinformatics*. 2016;17:135. DOI: 10.1186/s12859-016-0992-y
55. Rusk N. Torrents of sequence. *Nature Methods*. 2011;8(44). DOI: 10.1038/nmeth.f.330
56. Pennisi E. Semiconductors inspire new sequencing technologies. *Science*. 2010;327(5970):1190. DOI: 10.1126/science.327.5970.1190
57. Sims D, Sudbery I, Ilott N, Heger A, Ponting CP. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nat Rev Genet*. 2014;15(2):121-132. DOI: 10.1038/nrg3642
58. Duvallat C. Meta-analysis generates and prioritizes hypotheses for translational microbiome research. *Microbial Biotechnology*. 2018;11(2). DOI: 10.1111/1751-7915.13047
59. Bunker JJ, Flynn TM, Koval JC, Shaw DG, Meisel M, McDonald BD, et al. Innate and adaptive humoral responses coat distinct commensal bacteria with immunoglobulin A. *Immunity*. 2015;43(3):541-553. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.08.007
60. Pabst O, Cerovic V, Hornef M. Secretory IgA in the coordination of establishment and maintenance of the microbiota. *Trends Immunol*. 2016;37(5):287-296. DOI: 10.1016/j.it.2016.03.002
61. Pabst O. Correlation, consequence, and functionality in microbiome-immune interplay. *Immunol Rev*. 2017;279(1):4-7. DOI: 10.1111/imr.12584
62. Fadlallah J, El-Kafsi H, Sterlin D, Juste C, Parizot C, Dorgham K, et al. Microbial ecology perturbation in human IgA deficiency. *Sci Transl Med*. 2018;10(439):eaan1217. DOI: 10.1126/scitranslmed.aan1217
63. Macpherson A, Yilmaz B. Antibodies that IgA ate our intestinal microbes. *Sci Immunol*. 2018;3(23):eaat4037. DOI: 10.1126/sciimmunol.aat4037
64. Goverse G, Molenaar R, Macia L, Tan J, Erkelens M, Konijn T, et al. Diet-derived short chain fatty acids stimulate intestinal epithelial cells to induce mucosal tolerogenic dendritic cells. *J Immunol*. 2017;198(5):2172-2181. DOI: 10.4049/jimmunol.1600165
65. Agace WW, McCoy KD. Regionalized development and maintenance of the intestinal adaptive immune landscape. *Immunity*. 2017;46(4):532-548. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.04.004
66. Singh R, Kumar M, Mittal A, Mehta PK. Microbial metabolites in nutrition, healthcare and agriculture. *Biotech*. 2017;7(1):15. DOI: 10.1007/s13205-016-0586-4
67. Mohandas S, Vairappan B. Role of pregnane X-receptor in regulating bacterial translocation in chronic liver diseases. *World J Hepatol*. 2017;9(32):1210-1226. DOI: 10.4254/wjh.v9.i32.1210
68. Kelly CJ, Zheng L, Campbell EL, Saeedi B, Scholz CC, Bayless AJ, et al. Crosstalk between microbiota-derived short-chain fatty acids and intestinal epithelial HIF augments tissue barrier function. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):662-671. DOI: 10.1016/j.chom.2015.03.005
69. McCoy K, Ronchi F, Geuking MB. Host-microbiota interactions and adaptive immunity. *Immunol Rev*. 2017;279(1):63-69. DOI: 10.1111/imr.12575
70. Schmidt T, Raes J, Bork P. The human gut microbiome: from association to modulation. *Cell*. 2018;172(6):1198-1215. DOI: 10.1016/j.cell.2018.02.044
71. Schubert K, Olde-Damink SWM, Von-Bergen M, Schaap F. Interactions between bile salts, gut microbiota, and hepatic innate immunity. *Immunol Rev*. 2017;279(1):23-35. DOI: 10.1111/imr.12579
72. Martinez K, Leone V, Chang E. Microbial metabolites in health and disease: navigating the unknown in search of function. *J Biol Chem*. 2017;292(21):8553-8559. DOI: 10.1074/jbc.R116.752899
73. Vaidyanathan B, Chaudhry A, William T, Angeletti D, Yen W, Wheatley A, et al. The aryl hydrocarbon receptor controls cell-fate decisions in B cells. *JEM*. 2016; Dec 3. DOI: 10.1084/jem.20160789

74. Lécuyer E, Rakotobe S, Lengliné-Garnier H, Lebreton C, Picard M, Juste C, et al. Segmented filamentous bacterium uses secondary and tertiary lymphoid tissues to induce gut IgA and specific T helper 17 cell responses. *Immunity*. 2014;40(4):608-620. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.009
75. Donaldson GP, Ladinsky MS, Yu KB, Sanders JG, Yoo BB, Chou WC, et al. Gut microbiota utilize immunoglobulin A for mucosal colonization. *Science*. 2018;360(6390):795-800. DOI: 10.1126/science.aag0926
76. Obermajer T, Lipoglavšek L, Tompa G, Treven P, Lorbeg PM, Rogelj I, et al. Colostrum of healthy Slovenian mothers: microbiota composition and bacteriocin gene prevalence. *PLoS One*. 2015;10(6):e0132201. DOI: 10.1371/journal.pone.0123324
77. Okai S, Usui F, Yokota S, Hori Y, Hasegawa M, Nakamura T, et al. High-affinity monoclonal IgA regulates gut microbiota and prevents colitis in mice. *Nat Microbiol*. 2016;1(9):16103. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.103
78. Palm NW, De-Zoete MR, Cullen T, Barry NA, Stefanowski J, Hao, L, et al. Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. *Cell*. 2014;158(5):1000–1010. DOI: 10.1016/j.cell.2014.08.006
79. Isolauri E, Kalliomäki M, Laitinen K, Salminen S. Modulation of the maturing gut barrier and microbiota: a novel target in allergic disease. *Curr Pharm Des*. 2008;14(14):1368-1375. DOI: 10.2174/138161208784480207
80. Diesner SC, Bermayr C, Pfizner B, Assmann V, Krishnamurthy D, Starkl P, et al. A distinct microbiota composition is associated with protection from food allergy in an oral mouse immunization model. *Clin Immunol*. 2016;173:10-18. DOI: 10.1016/j.clim.2016.10.009.
81. Park HJ, Lee SW, Hong S. Regulation of allergic immune responses by microbial metabolites. *Immune Netw*. 2018;18(1):e15. DOI: 10.4110/in.2018.18.e15
82. Kukkonen K, Kuitunen M, Haahtela T, Korpela R, Poussa T, Savilahti E. High intestinal IgA associates with reduced risk of IgE-associated allergic diseases. *Pediatr Allergy Immunol*. 2010;21(1 Pt 1):67-73. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2009.00907.x
83. Dzidic M, Abrahamsson TR, Artacho A, Björkstén B, Collado MC, Mira A, et al. Aberrant IgA responses to the gut microbiota during infancy precede asthma and allergy development. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(3):1017-1025. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.06.047
84. Brandtzaeg, P. Secretory IgA: designed for anti-microbial defense. *Front Immunol*. 2013;4:222. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00222