

Resumen de la tesis

Se ha estimado que obtenemos más de las tres cuartas partes del nitrato que ingerimos de la fruta y la verdura. Los vegetales ricos en nitratos incluyen verduras de hoja verde y ciertos tubérculos (p. ej., remolachas y rábanos). Las glándulas salivales concentran activamente el nitrato plasmático, lo que da lugar a concentraciones elevadas de nitrato en la saliva (5 a 8 mM) después de una comida rica en nitratos. El nitrato es un factor ecológico que puede inducir cambios rápidos en la estructura y función de las comunidades polimicrobianas. Sin embargo, los efectos sobre la microbiota oral no se han estudiado en detalle, mientras que un número limitado de estudios previos a esta tesis indican que es probable que el nitrato sea beneficioso para la salud bucal. El objetivo de esta tesis es, por tanto, estudiar los cambios microbiológicos inducidos por nitratos e identificar posibles mecanismos de homeostasis generados por este compuesto, con el fin de determinar si el nitrato puede considerarse un prebiótico para la salud bucal. Un segundo objetivo fue aislar cepas reductoras de nitrato y probar su potencial probiótico *in vitro*. En el capítulo 1, se realizó un estudio *in vitro* para testar el efecto del nitrato 6,5 mM en comunidades orales cultivadas a partir de la saliva de 12 individuos sanos. En el capítulo 2, se obtuvieron 53 aislados de bacterias reductoras de nitrato y se probó el efecto de seis candidatos a probióticos en comunidades orales sanas cultivadas a partir de saliva de diferentes donantes con o sin nitrato 6,5 mM. En el capítulo 3, se estudió el efecto de un extracto de remolacha rico en nitrato sobre la acidificación oral después de un enjuague con azúcar en 24 individuos sin caries activas. Se tomaron sobrenadantes (capítulos 1 y 2) o muestras de saliva (capítulo 3) para mediciones de nitrato, nitrito, amonio, lactato y pH. Además, la composición bacteriana de la biopelícula *in vitro* y del pellet salivar se determinó usando secuenciación Illumina del rRNA 16S y/o qPCR del género nitratorreductor *Rothia*. Los datos demuestran que el nitrato estimula el crecimiento de los géneros beneficiosos *Rothia* y *Neisseria* en nuestro modelo *in vitro*, mientras que potencialmente disminuye las bacterias asociadas a la caries, la halitosis y la enfermedad periodontal. Además, los datos *in vitro* e *in vivo* presentados en esta tesis indican que el nitrato puede limitar o prevenir caídas de pH cuando los azúcares son fermentados por la microbiota oral, un mecanismo de resiliencia que podría ser estimulado por el consumo de extractos vegetales ricos en nitratos. Los principales mecanismos de amortiguación del pH por parte del nitrato son el uso de ácido láctico durante la desnitrificación (observado tanto *in vivo* como *in vitro*) y durante la reducción de nitrito a amonio, así como la producción potencial de amoníaco (observado *in vitro*). En esta tesis, los efectos del nitrato se observaron después de períodos cortos, es decir, después de 5-9 h de incubación *in vitro* y 1-4 horas después de la ingesta del suplemento de nitrato *in vivo*. Los estudios futuros deberían centrarse en los efectos longitudinales de la ingesta diaria de nitratos. En el capítulo 2, se aislaron bacterias reductoras de nitrato pertenecientes a los géneros *Rothia* y *Actinomyces*. Una selección de aislados de *Rothia* aumentó el uso de lactato y la capacidad de reducción de nitratos de las comunidades bucales, lo que

potencialmente beneficiaría la salud dental y la salud sistémica, respectivamente. Los datos *in vitro* e *in vivo* presentados en esta tesis sugieren que el nitrato puede modular la microbiota oral en aspectos que son beneficiosas para el huésped y, por lo tanto, podría considerarse una sustancia prebiótica para la microbiota oral. Además, los aislados reductores de nitratos pueden estimular los efectos beneficiosos del metabolismo del nitrato, sobre todo en personas con bajos niveles de estas bacterias. El nitrato y las bacterias reductoras de nitrato son, por lo tanto, componentes prometedores para futuros productos de salud oral para prevenir o tratar enfermedades bucales, lo cual debería investigarse más a fondo.