



ACADEMIA DE FARMACIA DE LA COMUNITAT VALENCIANA

DRA. DÑA. HORTENSIA RICO VIDAL

EL MICROBIOMA HUMANO: CARACTERÍSTICAS Y SU INFLUENCIA EN EL MANTENIMIENTO DE LA SALUD

Discurso de presentación del Académico Numerario

Excmo. Prof. Dr. D. Rafael Sentandreu Ramón

Discurso de recepción como Académica correspondiente

Ilma. Profa. Dra. Dña Hortensia Rico Vidal

Leídos en Valencia el día 3 de junio de 2019

ACADEMIA DE FARMACIA
DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

Discurso de presentación del Académico Numerario

Excmo. Prof. Dr. D. Rafael Sentandreu Ramón

Discurso de recepción como Académica correspondiente

Ilma. Profa. Dra. Dña Hortensia Rico Vidal

Excelentísimo Sr. Presidente de nuestra Academia

Excelentísimo Señores Académicos

Dignatarios

Señoras y señores

Amigas y amigos

Hoy es para nuestra Academia de Farmacia un día especial porque el Profesora Hortensia Rico Vidal va a tomar posesión como Académica Correspondiente. Para mí también lo es porque he sido propuesto, y lo agradezco con sinceridad, al Excelentísimo Sr. Presidente de nuestra Academia para consumir su presentación, privilegio y honor que derivan del hecho de haber sido uno de los Profesores que tuvo durante sus estudios de licenciatura en la Facultad de Farmacia y posteriormente director junto con la Dra. María Victoria Elorza González de su tesis de doctorado en la Universitat de Valencia.

Cumplo con el privilegio de realizar su presentación, que enfoca- re, más allá de mi admiración hacia una antigua alumna, en el trabajo lú- cido, ingenioso e imaginativo que ha desarrollado posteriormente como científica y profesora. Me gustaría hacer esta presentación basándome en la triple concurrencia que veía Aristóteles en su Ética a Nicómaco: valentía, justicia y prudencia.

TRAYECTORIA PERSONAL

La Dra. Hortensia Rico nació en 1958 en Alicante siendo hija de Juan Rico y Hortensia Vidal y está casada con Carlos Sebastiá, farma- céutico especialista en análisis clínicos. Tienen tres hijos Carlos, el ma- yor, farmacéutico, Juan Pedro, que es arquitecto y Jaime, el pequeño, también farmacéutico. Juan, su padre, tuvo oficina de Farmacia en la ciudad de Elda, siendo además inspector farmacéutico municipal.

Las enseñanzas paternas que recibió le dieron una nueva visión de lo que quería para su vida, para su futuro, que no era otra cosa que estudiar farmacia y así adquirir nuevos conocimientos, que le podían acercar a ese futuro. Sin duda, estas experiencias familiares marcaron su vocación por enseñar con rigor y con la meticulosidad necesaria para obtener buenos resultados científicos y para trasmitir lo valioso que resulta tener imaginación.

Una vez obtenida su licenciatura en la Facultat de Farmacia de la Universitat de Valencia se incorporó al Departamento de Microbiología iniciando su formación como microbióloga. Los estudios realizados le permitieron obtener la Tesina de Licenciatura “Estudio morfogenético en *Candida albicans*”, siendo sus directores la Dra M^a Victoria Elorza Gon- zález, Investigadora Científica del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y el que les habla, obteniendo la calificación de Sobresaliente. Continuó con sus estudios y trabajos experimentales conducentes al título de doctor con el trabajo “Macromoléculas de la pared celular de *Candida albicans*. Estudios citológicos y bioquímicos” con sus mismos directores y con la calificación máxima de Sobresaliente “cum laude”. Finalmente ha obtenido el título de Farmacéutica Especialista en Micro- biología y Parasitología por parte del Ministerio de Educación y Ciencia.

LA DRA. RICO Y LA INVESTIGACIÓN

La Dra. Rico se ha especializado en las siguientes técnicas fundamentales: microscopía de fluorescencia, inmunomicroscopia óptica y electrónica, microscopía laser confocal, ultramicrotomía, microscopía electrónica de transmisión, microscopía electrónica de barrido y criofractura

Ha trabajado en 1. Investigación básica. Hongos filamentosos: estudios bioquímicos y citológicos, 2. Microbiología de los alimentos: Detección de microorganismos patógenos en alimentos. Detección de microorganismos alterantes de alimentos y 3. Microbiología Clínica: Detección de resistencias a antibióticos.

Ha participado en una veintena de proyectos de investigación financiados por diversos organismos oficiales entre los que se encuentran la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, el Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social, por el Instituto Valenciano de Estudios e Investigación, por la Dirección General de Investigación Científica y Técnica del Ministerio de Educación y Ciencia, por el Instituto de Salud Carlos III, por la Generalitat Valenciana y por la Unión Europea.

TRABAJOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS

Actualmente tiene numerosos trabajos científicos publicados en revistas de impacto

Comentaré a continuación solo algunos de los resultados más significativos publicados por la Dra. Rico haciendo especial énfasis en los obtenidos por distintos tipos de microscopios.

Uno: Demostró que en *Saccharomyces cerevisiae* y en presencia de calcofluor white tanto las cicatrices de nacimiento como el tabique de separación de la célula madre e hija exhiben fluorescencia, confirmando que en ambos casos que se trata de quitina. Además, la adición de calcofluor white a células en crecimiento no inhibe la formación de proteínas y otros polímeros de la pared, pero resulta en una deposición anormal de quitina y en protoplastos en regeneración de *Candida albicans* el

calcofluor altera la formación de la red cristalina de quitina demostrando que ésta se produce por autoensamblaje. (Elorza MV, Rico H, Sentandreu R. *Calcofluor white alters the assembly of chitin fibrils in Saccharomyces cerevisiae and Candida albicans cells. J Gen Microbiol* 1983, 129:1577-1582).

Dos: Mediante microscopía electrónica de fractura por congelación encontró que protoplastos de *Candida albicans* presentan en su cara externa (cara E) de su membrana plasmática una disminución significativa en el número de partículas intramembranosas (IMP) en comparación con las células originales. Después de 40 minutos de regeneración se pueden observar microfibrillas sintetizadas de novo y después de 8 h, la regeneración la pared celular ha sido completa ya que no se detectan diferencias con las células originales. (Miragall F, Rico H, Sentandreu R. 1986. *Changes in the plasma membrane of regenerating protoplasts of Candida albicans as revealed by freeze-fracture electron microscopy. J Gen Microbiol.* 132:2845-2853).

Tres: Determinó el comportamiento de la síntesis de polisacáridos en las paredes de los protoplastos en regeneración de *Candida albicans* en presencia de papulacandina B, tunicamicina y nikkomycin. Con el primer fármaco, la quitina se incorporó normalmente mientras que la incorporación de glucanos y manoproteínas se redujo significativamente. La tunicamicina disminuyó la incorporación de todos los polímeros de la pared cuando se agregó al comienzo del proceso de regeneración. Nikkomycin inhibió la síntesis de quitina, y las paredes formadas por los protoplastos se enriquecieron en glucano soluble en álcali. Los experimentos de pulso-caza sugirieron que en la pared celular existe una relación precursor-producto entre los glucanos solubles y los insolubles en álcali. Los resultados obtenidos con los antibióticos se confirmaron y ampliaron mediante estudios citológicos con aglutinina de germen de trigo marcada con oro coloidal y concanavalina A-ferritina como marcadores específicos de quitina y manoproteínas, respectivamente. Los resultados demuestran que la regeneración de las paredes celulares por protoplastos se produce en dos etapas: en la primera, se forma un esqueleto microfibrilar de quitina, y en un paso posterior se agregan complejos de glucano-manoproteína a la estructura en crecimiento. El esqueleto de quitina permite la disposición espacial ordenada de los otros polímeros que dan lugar a la pared celular regenerada. (Elorza MV, Murgui A, Rico H, Miragall F, Sentandreu R. 1987. *Formation*

of a new cell wall by protoplasts of Candida albicans: effect of papulacandin B, tunicamycin and Nikkomycin. J Gen Microbiol. 133:2315-2325).

Cuatro: Para evaluar la dinámica de la síntesis de la pared celular la regeneración de protoplastos de *Candida albicans*, se investigó la deposición de quitina y manoproteínas mediante la utilización de aglutinina de germen de trigo conjugada con peroxidasa u oro coloidal y concanavalina A acoplada a ferritina, respectivamente. Los protoplastos recién preparados carecen de receptores de la aglutinina de germen de trigo, pero después de 1-2 h de regeneración, ya se detectan. De estas observaciones, se concluyó que los protoplastos de *C. albicans* son capaces de regenerar en medio líquido una pared celular que consiste en una red de fibrillas de quitina y manoproteínas. Las fibrillas son el componente fundamental de la capa interna en las primeras etapas de la regeneración, mientras que las manoproteínas son predominantes en las capas externas de la pared. (Miragall F, Rico H, Sentandreu R. 1988. *Regeneration of the cell wall in protoplasts of Candida albicans. A cytochemical study using wheat germ agglutinin and concanavalin A. Arch Microbiol.149:286-290).*

OTRAS ACTIVIDADES CIENTÍFICAS

Ha participado con ponencias y/o comunicaciones en numerosos congresos tanto nacionales como internacionales como así mismo ha sido miembro de sus comités científicos.

Ha participado en un Convenio de colaboración con el Ayuntamiento de Valencia para realizar Investigación en el área de Microbiología. Marzo, 2012.

LA DRA. HORTENSIA RICO COMO PROFESORA

Ha dirigido tanto Tesis Doctorales como trabajos de Master, Tesinas de Licenciatura, Trabajos de investigación (DEA) y Trabajos Fin de Grado habiendo publicado varios capítulos en libros de su especialidad.

Ha sido Profesora Ayudante Clases Prácticas, Profesora Colaboradora, Profesora Ayudante de la LRU y Profesora Titular de Universidad . Fue coordinadora del Grado de Nutrición Humana y Dietética,

y actualmente es vicedecana de estudios de la Facultat de Farmacia.

Su actividad docente comprende diversas asignaturas de las enseñanzas de Grado en Farmacia, en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, de Nutrición Humana y Dietética y de Ciencias Gastronómicas. Además ha impartido docencia en los programas Ciencia ARA y en el programa para mayores del Servei d'Extensió Universitària de València, La Nau Gran y además participa en Proyectos de Innovación Educativa.

También ha sido Profesora Instructora (SWIPI) en el proyecto Small World Initiative (SWI) que tiene el objetivo de acercar la cultura científica y la investigación biomédica a niveles educativos preuniversitarios y fomentar la vocación investigadora.

Creo que hoy nuestra joven Academia se enriquece con esta nueva Académica y estimo que esta tarde es ocasión de celebrar con solemnidad el que esta tribuna académica se dignifique con una aportación tan destacada. Dra. Rico sea usted bienvenida a esta su Academia de Farmacia de la Comunidad de Valenciana

Rafael Sentandreu

Dra. Dña. Hortensia Rico Vidal

EL MICROBIOMA HUMANO:
CARACTERÍSTICAS Y SU INFLUENCIA
EN EL MANTENIMIENTO DE LA SALUD

Excmo. Sr Presidente de la Academia de Farmacia de la Comunidad Valenciana,

Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades presentes,

Excmos. e Ilms. Sres. Académicos,

Compañeros, Familia y Amigos

Sras. y Sres.

En primer lugar, quería agradecer a los Profesores Moreno Frigols, Sentandreu Ramón y Hernández Haba el aval para el ingreso en la Academia y al Prof. Sentandreu el honor de que haya querido dictar el discurso de mi presentación ante ustedes.

Cualquier reconocimiento por pequeño que sea siempre es motivo de alegría, así que imaginen cómo me siento hoy cuando se trata de algo tan importante como es el ingreso en esta ilustre corporación. Además, estoy profundamente emocionada porque he tenido la suerte de poder compartirlo con mi madre y mi familia.

Los Profesores Moreno y Sentandreu encarnan para mí la figura que tantas veces escuche nombrar a mi abuelo y a mi padre cuando hablaban de sus estudios en Granada: el Maestro. Entonces yo era

pequeña y pensaba que deberían referirse a unos señores muy mayores de barbas blancas y listísimos porque siempre los nombraban con veneración. Cuando terminé mi etapa de estudiante lo comprendí todo. El Prof. Moreno fue uno de mis maestros académicos mientras que el Prof. Sentandreu junto con su esposa la Dra M^a Victoria Elorza lo fue además desde el ámbito científico. Por otra parte, el Prof. Javier Hernández simboliza junto con otros ilustres miembros de la Academia la generación de jóvenes profesores que iniciaron su andadura como docentes cuando nosotros lo hacíamos como estudiantes en una Facultad de Farmacia que daba sus primeros pasos. Gracias a todos por sus enseñanzas y consejos.

A los compañeros del Departamento, de la Facultad y a los amigos de toda la vida también les debo mucho, ya que siempre me he sentido querida y apoyada. Nos hemos reído mucho, y hemos compartido buenas y malas rachas, pero la amistad siempre ha estado por encima de cualquier circunstancia. También me gustaría nombrar a los Profesores M^a Teresa Barber y Juan Carlos Moltó porque me dieron la oportunidad de iniciarme en el mundo de la gestión académica. Confirieron en mí y eso en los tiempos que corren ya es mucho.

Y por último la familia. Soy biznieta, nieta por partida doble, hija, prima hermana, tía, mujer y madre de farmacéuticos. Una auténtica estirpe que nada tiene que envidiar a las bacterianas. Viví la época de las farmacias cuando en la rebotica se hacían muchas fórmulas magistrales, algunas por prescripción facultativa y otras por la propia creatividad del boticario, como por ejemplo el maravilloso Toni Pelo Rico. Además, en la Farmacia de mi abuelo Ramón era como si todos los días tocara guardia, hasta el extremo que el sereno aguardaba a la llamada de los vecinos dormitando en el interior de la misma. Mientras tanto, la otra parte de mi tiempo discurría entre el laboratorio de mi padre y de mi abuelo ya que ambos eran también analistas clínicos. En realidad, entre otras cosas, lo que verdaderamente me hizo decidir que sería farmacéutica fue por una parte la visión de las tinciones en el microscopio y por otra la de todas aquellas ranas de laboratorio metidas en sus recipientes. Por más que a mí me parecían iguales no debían serlo, ya que algunas daban grandes alegrías y otras sin embargo terribles disgustos cuando llegaban las distinguidas señoras clientas. Años más tarde comprendí el significado de Positivo y Negativo.

Esta pasión por los análisis la comparto también con mi marido Carlos. Un magnífico profesional que aún conserva una extraordinaria capacidad de estudio y de interés que lo lleva continuamente a estar al día en los últimos avances dentro de esta disciplina. Sin él, poco podría haber hecho a lo largo de mi trayectoria, ya que siempre tuve su apoyo y su cariño especialmente en los momentos difíciles. Ambos estamos también muy orgullosos de haber sido capaces de transmitir nuestro amor por la profesión a nuestros hijos. Carlos y Jaime ya son farmacéuticos y han complementado sus estudios con el Grado de Nutrición Humana y Dietética. La quinta generación ya está en marcha y se acompaña con nuestro otro hijo Juan Pedro que debe ser el arquitecto que tenga más nociones de farmacia, análisis y dietética de todo el universo. Gracias por estar ahí y perdón por todas las horas que dejé de dedicaros.

Y por último un recuerdo especial a mi madre que no ha podido venir pero que siempre ha estado a mi lado y a mi padre Juan y a mis abuelos Joaquín y Ramón, porque fueron capaces de hacerme sentir lo especial e importante que es la profesión de farmacéutico

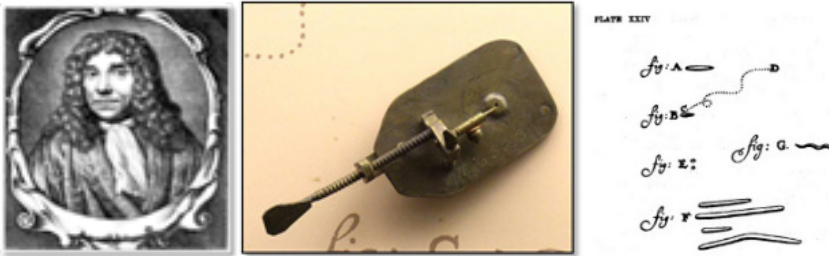
EL MICROBIOMA HUMANO: CARACTERÍSTICAS Y SU INFLUENCIA EN EL MANTENIMIENTO DE LA SALUD

Antes de introducirnos en el estudio de la microbiota humana deberíamos preguntarnos cuando se produjo la interacción del ser humano con los microorganismos. La respuesta es sencilla: desde el primer momento de la aparición del hombre en la Tierra, ya que el primer ser vivo que surgió hace 3.800.00 millones de años fue una bacteria ancestral a partir de la cual se desarrollaron el resto de los organismos.

La segunda consideración sería pensar cuando el hombre fue consciente de su existencia. Desde mi punto de vista, los primeros pobladores humanos se enfrentaban a diario con numerosos fenómenos que no comprendían, y seguro que uno de ellos sería mirar el cielo y sobre todo las estrellas. Aunque posiblemente no imaginaran ni su origen ni el porqué de su presencia, a fuerza de tanto observarlas consiguieron al final darle una utilidad dentro de su vida (sentido de orientación, uso en agricultura, etc.).

Pero ... ¿y los microorganismos?, Si nos basamos en el dogma que ha acompañado durante mucho tiempo al ser humano, de que “aquello que no se ve no existe”, era más fácil atribuir los efectos benéficos o perjudiciales de los microorganismos a la actividad de una serie de deidades que de manera caprichosa bendecían o castigaban a sus fieles seguidores.

Tuvimos que esperar hasta el año 1673 para que la habilidad en el pulido de las lentes, del comerciante de tejidos Anton van Leeuwenhoek, permitiera por primera vez visualizar una bacteria (Fig. 1). El concepto “animáculo” se difundió entonces a través de las observaciones de Leeuwenhoek, pero eso no implicó que se les pudiera relacionar con las actividades de los microorganismos que tanto afectaban a la vida del ser humano



1. Ilustraciones de Anton van Leeuwenhoek. Imagen: Royal Society of London

Los estudios de Louis Pasteur en el año 1864, junto con los de Robert Koch en 1876, si supusieron un avance definitivo en el estudio de los microorganismos, al ser desterrada por el primero la Teoría de la Generación Espontánea y por formular Koch sus famosos postulados que sentaban la base para la Teoría germinal de la enfermedad.

Posteriormente y gracias al avance de determinadas técnicas de visualización y cultivo, se entró en la llamada Edad de Oro de la Microbiología, con un incesante interés por parte de los “cazadores de microbios”, en asociar cada enfermedad con su microorganismo causal.

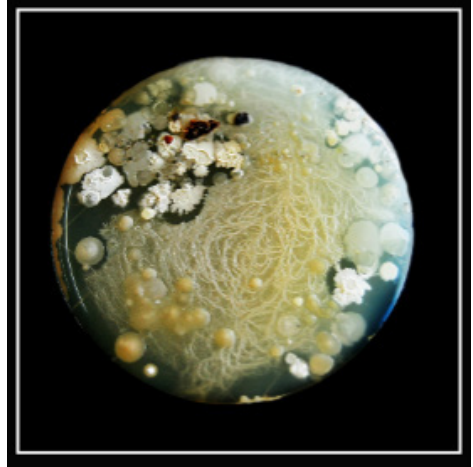
A partir de ese momento supimos que la mayoría de las enfermedades infecciosas estaban producidas por bacterias, pero eso no consolaba a los afectados ya que la mortalidad, especialmente la infantil, era altísima.

Afortunadamente en 1928, Fleming descubre la penicilina, y en 1942 comienza su dispensación en las Farmacias, lo que nos introduce de lleno en la era de la antibioticoterapia. Parecía que todo estaba ganado, y esto llevó a William H. Stewart a declarar en 1969 “que había llegado el momento de cerrar el libro de las enfermedades infecciosas”.

Nada más lejos de la realidad ya que como efecto, entre otras causas, de la administración de los antibióticos, las bacterias empezaron a crear resistencias, pero eso... es otra historia.

Ahora la que quiero relatarles es la del descubrimiento del apasionante mundo de la Microbiota humana (Fig. 2) y de sus extraordinarias propiedades en el mantenimiento de nuestra salud.

En el curso 1976-77, tuve mi primer contacto con la Microbiología de la mano de los Profesores Enrique Hernández y Francisco Dubón. Ellos me enseñaron que existían unos microorganismos que habitaban en nuestro cuerpo a los que se les denominaba *microflora normal* o propia y que colonizaban de manera permanente determinadas zonas de nuestro cuerpo, mientras que la *microflora transitoria* era la que se encontraba de manera temporal y podía ser eliminada con unos hábitos de limpieza adecuados.



2. Microbiota cutánea. Imagen: H.Rico

Por lo demás, y quitando del ejemplo de *Escherichia coli* y su aportación beneficiosa de vitaminas en nuestro intestino, poca utilidad más se les daba a estos compañeros de viaje. De hecho, se pensaba que el hombre era autosuficiente prácticamente para todo, desde nutrir a sus células mediante la ingesta de los alimentos hasta el aprendizaje de los fenómenos de la inmunidad. En pocas palabras, éramos como islas con todo lo necesario para autoabastecernos, pero eso sí, con una serie de inquilinos a los que soportábamos en forma de ecosistema obligatorio.

El proyecto Microbioma Humano

Tras la conclusión del proyecto Genoma Humano, surge en el año 2008, como una iniciativa del Instituto Nacional de la Salud de EEUU, el proyecto *Microbioma Humano* con el objeto de identificar y caracterizar los microorganismos que se encontraban asociados al hombre, tanto en la salud como en la enfermedad.

Numerosos artículos científicos se han publicado desde entonces y mi objetivo es mostrarles de una manera resumida todos los resultados descritos que aún siguen vigentes junto con las últimas aportaciones que dotan a la microbiota de propiedades ciertamente novedosas.

1.- ¿Cuántos son y dónde están?

Tradicionalmente el estudio de los microorganismos presentes en un determinado hábitat se realizaba mediante el uso de métodos tradicionales de aislamiento en microbiología, mientras que su caracterización en el ámbito genético se efectuaba aplicando técnicas de clonación y secuenciación. De esta forma, el estudio de la diversidad microbiana se restringía a aquellos microorganismos cultivables, excluyéndose los de difícil manejo en el laboratorio (99,8%). Por lo tanto, el estudio de la totalidad de las comunidades microbianas en su ambiente natural no era aún posible.

Sin embargo, las innovaciones en el ámbito de las técnicas instrumentales siempre van acompañadas de avances en determinados sectores de la Ciencia, y así ocurrió en este caso con la llegada de la *Metagenómica*.

Esta técnica permite analizar, conjuntamente y sin cultivo, la estructura y función de un gran número de genes microbianos presentes en un ambiente determinado. Para ello, utiliza tecnologías genómicas y herramientas bioinformáticas con el fin de acceder directamente al contenido genético de las comunidades de microorganismos, permitiendo conocer su diversidad taxonómica, así como su función en las mismas.

Por otra parte, también ha permitido el descubrimiento de genes, producidos por microorganismos no cultivables, que codifican enzimas,

metabolitos y productos naturales, no descritos hasta ahora, y que han demostrado ser de gran interés industrial y clínico

Una vez que se dispuso de la herramienta adecuada los integrantes del Proyecto Microbioma Humano pudieron empezar su trabajo con el fin de contestar a las preguntas de: ¿Quiénes están ahí y que hacen en nuestro cuerpo?

El término *Microbiota humana* hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos (bacterias, hongos, arqueas, virus y parásitos) que residen en nuestro cuerpo y que a su vez pueden clasificarse como comensales, mutualistas y patógenos. Sin embargo, el *Microbioma* es el conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos en un entorno definido. Cuando hablamos de *Metagenoma* el concepto es más amplio pues incluiría todo el material genético presente en una muestra, y que en nuestro caso comprendería el conjunto del genoma humano y el de los microorganismos.

Los primeros datos que se aportaron desde el Proyecto fueron que en nuestro cuerpo conviven unos 100 trillones de formas de vida microscópica (10^{18}), pero que cuando restringimos este dato sólo a las bacterias el orden disminuye a 10^{14} .

Si comparamos el número de microorganismos entre hombres y mujeres, somos nosotras las que tenemos mayor cantidad y mayor ratio Bacterias/Células humanas (2.2: 1).

Estas proporciones han cambiado ya que los primeros resultados indicaban que había una proporción de 10:1, pero esto era debido a que no se cuantificaban los glóbulos rojos como células de nuestro cuerpo

Por este mismo motivo también es inexacto el peso de 2 Kg que se le atribuía a la microbiota ya que en realidad supone solo 0,2 Kg de nuestro propio peso.

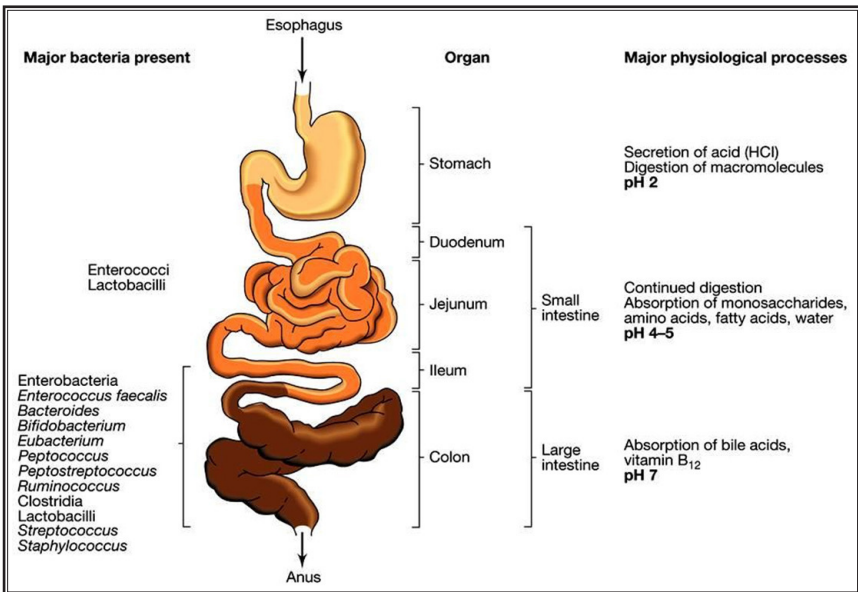
Con respecto a su distribución, la mayor diversidad se encuentra en el tracto intestinal, en la boca, en la piel y en el aparato reproductor, coincidiendo con los datos que se indicaban para la microflora, si bien en un cierto porcentaje se mantienen latentes.

A diferencia de lo que se pensaba entonces, todos estos mi-

croorganismos han demostrado estar involucrados en innumerables procesos relacionados con la nutrición, el metabolismo, la inmunidad, las enfermedades, el envejecimiento, etc., de manera que ahora comprendemos que muchas de las funciones vitales que son fundamentales para el ser humano dependen de nuestro microbioma. De hecho, como bien saben ustedes, algunos ya lo consideran un órgano más de nuestro cuerpo.

Pero vamos a centrarnos especialmente en el *Microbioma intestinal*. (Fig. 3). Se estima que la población microbiana del intestino humano incluye unos 100 billones de bacterias pertenecientes a 1.000 especies distintas, de manera que es junto con el de otros vertebrados uno de los ecosistemas más densamente poblados de la tierra. Además, contiene aproximadamente 3 millones de genes lo que supone una cifra 150 veces superior que la de los propios genes humanos.

El estómago y el duodeno albergan un número reducido de microorganismos que se adhieren a la superficie de la mucosa o están en tránsito. Las secreciones ácidas, biliares y pancreáticas destruyen



3. Distribución de la microbiota en el tracto gastrointestinal. Imagen: <http://microbiology.blogspot.com/>

la mayor parte de los microorganismos ingeridos, y la actividad motora impide una colonización estable de la luz del intestino delgado. El número de bacterias aumenta progresivamente a lo largo del yeyuno y el íleon, con un predominio de aerobios gram negativos y algunos anaerobios obligados. En el colon el tiempo de tránsito es lento (2-4 días) lo que brinda a los microorganismos la oportunidad de proliferar fermentando los sustratos disponibles derivados de la dieta o de las secreciones endógenas. Está densamente poblado de anaerobios y los recuentos alcanzan concentraciones 10.000 veces mayores que en el íleon.

Los microorganismos que componen la microbiota intestinal pertenecen a las clases *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria* y *Cyanobacteria*, si bien el 90% de las mismas se encuentran en los 3 primeros grupos.

2.- Adquisición de la microbiota

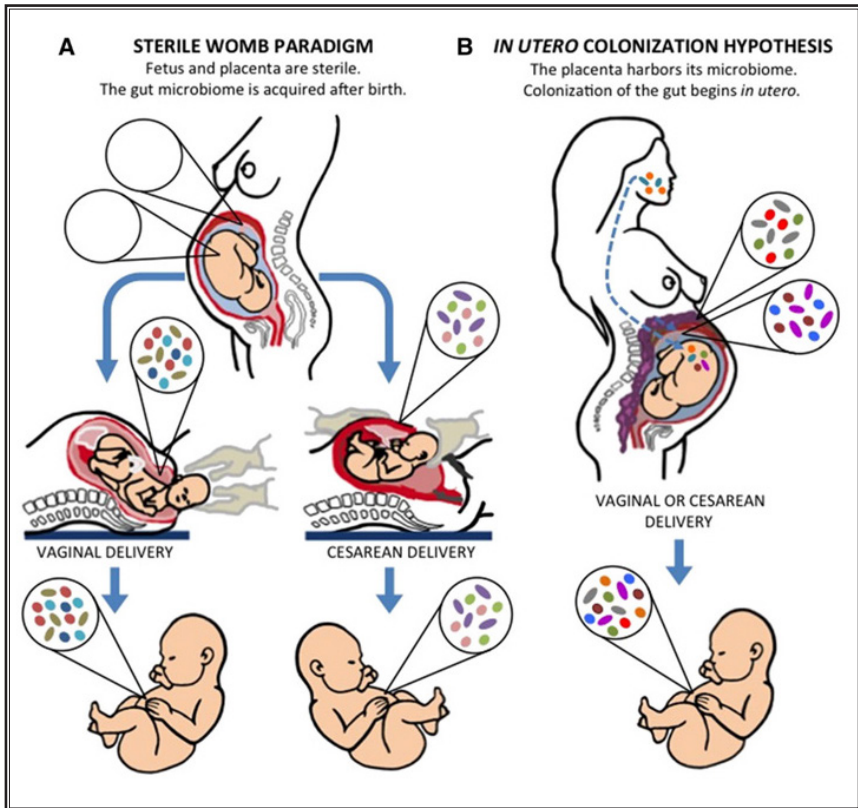
Durante mucho tiempo la idea de que el feto se desarrollaba en un ambiente estéril y que el microbioma del recién nacido se adquiría durante y después del nacimiento fue un dogma totalmente aceptado. Sin embargo, algunos estudios sugerían la existencia de comunidades bacterianas en la placenta, líquido amniótico y meconio. Estos hallazgos llevaron a muchos científicos a desafiar el “paradigma de la matriz estéril” y proponer que la adquisición del microbioma comenzaba en el útero, lo que cambiaba por completo la comprensión de la adquisición de la microbiota intestinal y su papel en el desarrollo humano (Fig. 4).

En el paradigma del útero estéril, la placenta, el líquido amniótico y el intestino fetal permanecen estériles durante el embarazo, y el microbioma se adquiere durante y después del nacimiento. En consecuencia, la microbiota intestinal de los bebés nacidos por vía vaginal se asemeja a la microbiota de la vagina de la madre, mientras que la microbiota de los bebés nacidos por cesárea es similar a la microbiota de la piel de la madre.

La “hipótesis de colonización en el útero” propone que algunos miembros del microbioma intestinal de los bebés se adquieren antes del nacimiento, probablemente a través del contacto con un microbio-

ma placentario, cuyo origen sería el microbioma oral o del intestino de la madre.

Sin embargo, estudios recientes han demostrado que el líquido amniótico es estéril en todas las mujeres que dan a luz en menos de 6 h, obteniéndose cultivos positivos sólo en aquellos casos en los que el parto se prolonga mucho más. Otros autores también han concluido que la mayoría de las placentas son estériles, y que la presencia de bacterias suele deberse a su contaminación durante la expulsión. Y con respecto a las muestras de meconio se sugiere que la mayoría presentan cultivos negativos, siempre que se emitan dentro de los primeros 500 min tras el parto.



4. Representación esquemática de los dos conceptos de adquisición de la microbiota. (Imagen: Perez-Muñoz et al., *Microbiome* (2017) 5:48)

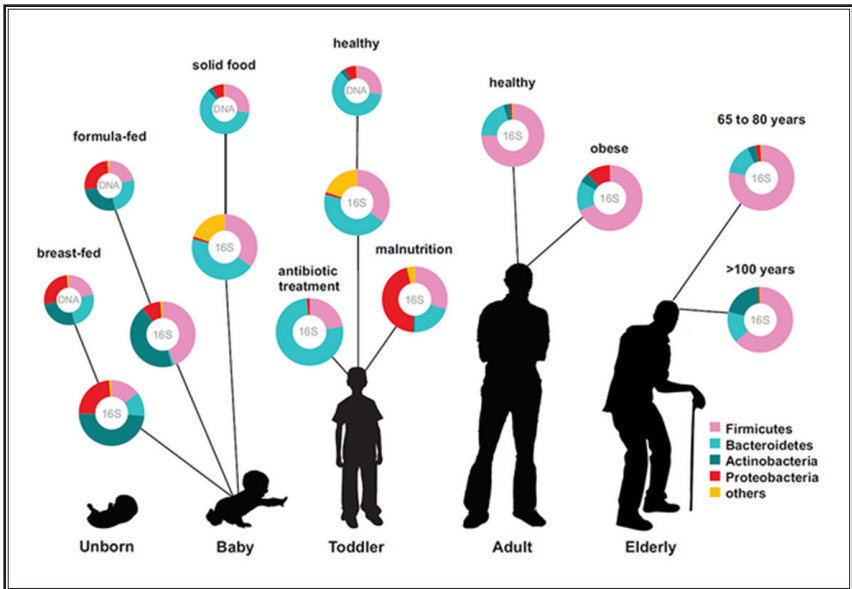
Todas estas evidencias, junto con las obtenidas con el empleo de ratones axénicos, indican que la hipótesis de la colonización en el útero no es muy probable.

3.- Desarrollo de la microbiota a lo largo de la vida

El desarrollo del microbioma, desde el momento del parto hasta que nos hacemos mayores, depende de una gran variedad de factores (Fig. 5).

El primer periodo que va desde recién nacido hasta los 4 años se caracteriza por presentar tres etapas de progresión:

Fase de desarrollo (3-14 meses): Se inicia con la colonización del tubo digestivo por cepas aeróbicas y anaeróbicas facultativas, como *Lactobacillus* y *Escherichia coli*, junto con un microsistema de bacterias anaeróbicas, compuestas fundamentalmente por los géneros: *Clostridium*, *Bacteroides* y *Bifidobacterium*.



5. Desarrollo del microbioma a lo largo de las etapas de la vida. (Ottman et al., *Front Cell Infect Microbiol.* (2012) 2: 104.)

La forma de nacimiento influye significativamente en el microbioma durante esta fase, estando caracterizada en los bebés nacidos por vía vaginal, por la presencia de altas concentraciones de especies de *Bacteroides* (particularmente *B. fragilis*).

Otro factor importante es la ingesta de leche materna de manera exclusiva o parcial, relacionándose con la presencia de niveles muy altos de *Bifidobacterium* (*B. breve* y *B. bifidum*) en los niños alimentados mediante esta vía. Sin embargo, cuando la toma de leche cesa se produce una rápida maduración de la microbiota marcada por el filo *Firmicutes*.

Entre los 15 a 30 meses se entra en una **fase de transición** que puede estar condicionada por la exposición a factores medio ambientales como localización geográfica, presencia de hermanos y/o mascotas en casa etc.

Finalmente, se llega a una **fase estable** (31-46 meses) en donde la microbiota que coloniza el tracto gastrointestinal es bastante parecida a la del adulto, modificándose puntualmente en la adolescencia por efecto de las hormonas, y permaneciendo posteriormente de nuevo invariable.

En esta etapa que va de la adolescencia a la edad adulta, la microbiota puede verse alterada:

temporalmente por el efecto de factores estresantes externos, como infecciones o ingesta de medicamentos

permanentemente por cambios en el estilo de vida o en los hábitos alimentarios

Las perturbaciones transitorias generalmente se recuperan con el tiempo; sin embargo, si el grado de afectación es demasiado grande o duradera se producirá una disbiosis. En ese momento la función beneficiosa de la microbiota intestinal se pierde, llevando consigo la aparición de diversos trastornos.

A partir de los 70 años el microbioma vuelve a cambiar por efecto de las enfermedades propias de la edad (caquexia, cáncer o enfermedades metabólicas), conduciendo a la aparición de diferentes alteracio-

nes de la función intestinal. Las variaciones más importantes consisten en un aumento de las bacterias proteolíticas unidas a una disminución de las bacterias sacarolíticas.

4.- Funciones de la microbiota

A la hora de abordar qué importancia tiene la microbiota en determinadas funciones fisiológicas del ser humano hay que tener en cuenta que nuestro tracto gastrointestinal no solo contiene billones de microbios y células epiteliales, sino que también recibe un aporte continuo de moléculas de nutrientes durante la ingesta de alimentos, además de las liberadas por nuestras propias células y las de los microorganismos. Por ello, ha sido fundamental en este tipo de estudios establecer protocolos para poder discernir correctamente cada uno de los componentes que se encuentran en la materia fecal.

A partir de estos datos experimentales junto con los obtenidos mediante estudios realizados en animales axénicos, se han podido identificar tres funciones primarias de la microbiota intestinal:

(A) función de nutrición y metabolismo:

Producida como resultado de la actividad bioquímica de la microbiota y que incluye: (i) recuperación de energía en forma de ácidos grasos de cadena corta, (ii) producción de vitaminas (K, B12, biotina, ácido fólico y pantoténico), (iii) síntesis de aminoácidos a partir del amoníaco o la urea y (iv) efectos favorables sobre la absorción de calcio, magnesio y hierro en el colon

(B) función de protección

Basada en prevenir la invasión de agentes infecciosos o el sobrecrecimiento de especies residentes potencialmente patógenas

(C) funciones tróficas

Al mantener el control sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal, y sobre el desarrollo y modulación del sistema inmune.

Función de nutrición y metabolismo

La fermentación de polisacáridos vegetales de estructura compleja (fibra) tiene lugar fundamentalmente en el colon. Constituye una fuente de energía importante para la proliferación bacteriana, y además produce ácidos grasos de cadena corta que al anfitrión le interesa absorber ya que: (i) constituye el sustrato ideal para los colonocitos, (ii) tienen efecto antiinflamatorio al inhibir ciertas citoquinas y (iii) se les ha atribuido la capacidad de inducir la apoptosis de las células malignas en el cáncer de colon.

· Rendimiento nutricional y desarrollo corporal

Estudios realizados con ratones libres de gérmenes han demostrado que la presencia de determinadas bacterias es importante para favorecer el rendimiento nutricional y el desarrollo corporal.

Bacteroides thetaiotaomicron es una bacteria capaz de transformar las moléculas complejas que se encuentran en los alimentos vegetales, en glucosa y otros azúcares simples fáciles de digerir, ya que posee genes con capacidad de codificar más de 260 enzimas que actúan sobre este tipo de alimentos.

En un experimento se utilizaron ratones que tenían a la bacteria formando parte de su microbiota intestinal junto con otros libres de la misma. Se les administró comida y posteriormente se evaluaron los resultados. Los ratones sin la bacteria necesitaron consumir un 30% más de calorías para alcanzar un peso similar a los ratones control, lo que indicaba claramente su importancia en este contexto.

Otro dato interesante dentro del ámbito del aprovechamiento nutricional, es el descrito en un estudio que investigaba qué bacterias tenían capacidad de actuar sobre los porfiranos.

Por una parte, se detectó a *Zobellia galactanivorans* una bacteria marina encargada entre otras de digerir diferentes tipos de algas incluida la denominada Nori. Una vez analizados sus genes y tras utilizar bases de datos para encontrar otros seres vivos con la misma capacidad, descubrieron una similitud en bacterias, del tipo *Bacteroides plebeius*.

Lo sorprendente es que solo la manifestaban las aisladas del intestino de personas que habitaban en Japón, incluyendo los niños lactantes. Por el contrario, los *Bacteroides* aisladas del tracto intestinal de los norteamericanos no contenían dichos genes.

Los autores consideraron posible que las bacterias del intestino de los japoneses adquiriesen los genes que codifican porfiranasas a partir de bacterias marinas ingeridas en su dieta tradicional. Es decir, se habría producido una transferencia génica horizontal, entre las algas consumidas con el sushi y las bacterias intestinales con el fin último de ayudar a digerir mejor la comida.

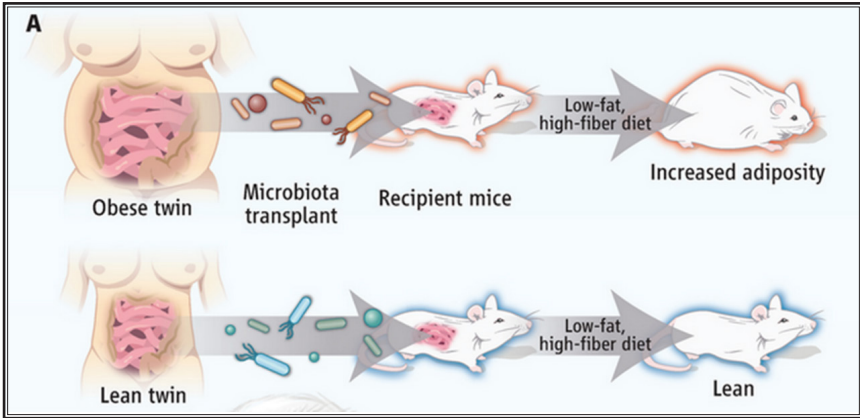
· Microbiota y obesidad

Actualmente la microbiota intestinal es considerada como un factor a tener en cuenta para el control del peso corporal, ya que influye en el metabolismo a través de la energía obtenida de la dieta, así como en la regulación del almacenamiento de la grasa corporal, de la lipogénesis, o de la oxidación de los ácidos grasos.

Numerosas evidencias científicas sugieren que un aumento del grupo de los *Firmicutes* y una disminución de los *Bacteroidetes*, juega un papel importante en la génesis y mantenimiento de la obesidad en el ser humano, probablemente interactuando con otros factores genéticos.

Experimentos realizados con ratones genéticamente obesos han demostrado que uno de los mecanismos más importantes que parecen contribuir a la obesidad se debe a la capacidad de su microbiota de extraer mayor energía de la dieta a través de la fermentación de los carbohidratos no absorbibles.

Además, este rasgo es transmisible ya que la colonización de ratones axénicos con la microbiota obtenida a partir de una persona obesa conduce a un aumento mucho más significativo de su grasa corporal que cuando se utiliza la microbiota de una persona delgada (Fig. 6).



6. Efecto del trasplante fecal a ratones axénicos de sujetos delgados u obesos. (Ridaura et al., Science (2013) 341: 124)

Estos resultados unidos a los de otros estudios coinciden en identificar la microbiota intestinal como un factor adicional a tener en cuenta en la fisiopatología de la obesidad.

- Influencia de la dieta en la microbiota

Para comprobar la influencia de la dieta en la composición de la microbiota, Griffin y col., analizaron las muestras de dos tipos de población. Unos ingerían una dieta típicamente americana con más de 3.000 calorías diarias, abundante proteína de origen animal, poca fruta y verdura, y mucha hamburguesa y pizza, mientras que el otro grupo practicaba dietas de restricción calórica, con menos de 1.800 calorías al día, rica en verduras y frutas, baja cantidad de proteína, tres veces menos de carbohidratos y la mitad de grasa que el primer grupo. En ambos casos se determinó previamente que no hubiera habido ingesta de antibióticos en los últimos 4 meses.

Los primeros resultados demostraron que las personas con un

régimen bajo en calorías tenían una comunidad microbiana mucho más rica y diversa que las que comían la típica dieta americana.

Una vez establecido este parámetro, el segundo objetivo del estudio fue comprobar la respuesta de la microbiota frente a cambios en el tipo de dieta. Para ello, se procedió a trasplantar bacterias del intestino de ambas poblaciones a ratones axénicos. A continuación, los alimentaron con los dos tipos de dietas para ver cómo cambiaban las comunidades microbianas trasplantadas. Así comprobaron que el peso de los ratones no se veía influido por el tipo de bacterias del donante, sino por la dieta ingerida. Es decir, los ratones que más engordaron fueron los que tomaban la dieta americana, pero eso era previsible.

Lo interesante fue comprobar que los ratones que habían sido trasplantados con la microbiota del grupo con alta ingesta calórica respondían peor al cambio a dieta vegetal ya que su comunidad microbiana no aumentaba ni se diversificaba. Sin embargo, los que habían recibido la microbiota de personas que se alimentaban de fruta y verduras respondían mucho mejor a cualquier cambio.

En resumen, la dieta puede alterar la composición de la microbiota intestinal, y viceversa, el tipo de microorganismos del intestino puede afectar la respuesta a una dieta determinada, siendo responsable en parte del famoso efecto rebote.

· Influencia del estilo de vida y la dieta en la evolución de la microbiota.

Hemos visto en el apartado anterior que la dieta puede contribuir a la modificación en la composición de la microbiota, pero la influencia del estilo de vida puede llevar incluso a la extinción evolutiva de algunos microorganismos en concreto.

Un estudio llevado a cabo por Gómez y col. comparando la composición de la microbiota de las tribus centroafricanas BaAka (cazadores-recolectores) y la de los Bantúes (agricultores), ha demostrado que los perfiles de ambos son diferentes, siendo un reflejo del grado de adherencia al estilo de vida tradicional. Cuando se compararon con el microbioma de la población norteamericana se encontró un patrón mayor de similitud en el caso de los Bantúes, indicando que la occidentalización conduce a la pérdida de ciertos microorganismos.

Función protectora

Aunque existen varias evidencias que demuestran este tipo de función, me voy a centrar especialmente en la que se desarrolla en los niños recién nacidos.

Como ya indicamos anteriormente, la microbiota de los niños alimentados con leche materna es mucho más diversa que la que proporciona la lactancia artificial, favoreciendo especialmente no solo la nutrición sino también la protección del niño.

Unos de los componentes más abundantes de la leche materna son glicoproteínas y oligosacáridos, pero sin embargo los bebés no los pueden digerir. Entonces, ¿Qué utilidad tienen?

Se ha comprobado que en el intestino de los niños criados con lactancia natural hay un aumento significativo de la población de bifidobacterias siendo especialmente abundante el *Bifidobacterium longum subsp. infantis*. Esta bacteria es capaz de utilizar los oligosacáridos como sustrato para su desarrollo, lo que resulta en un tapizado masivo de la mucosa intestinal. Con esta colonización se impide el crecimiento de microorganismos patógenos (*Streptococcus pneumoniae*, *E. coli* o *Listeria monocytogenes*) disminuyendo así el riesgo de infección. Sorprendentemente estos oligosacáridos no afectan al crecimiento de las bifidobacterias asociadas a la edad adulta.

En resumen, estaríamos hablando de un proceso de simbiosis atípico, ya que en este caso sería entre la madre y la bacteria, proporcionándole la primera el alimento a cambio de la protección del hijo.

Función trófica y de homeostasis del sistema inmune

El antiguo concepto de que el sistema inmune se desarrolla en respuesta a estímulos provocados por microorganismos patógenos no parece sostenerse actualmente. Sin embargo, la presencia de la microbiota en el intestino sí parece tener un impacto decisivo sobre el desarrollo y maduración de la inmunidad.

Los animales criados en condiciones de asepsia estricta muestran una importante atrofia del sistema inmune (foliculos linfoides de menor tamaño, escasez de linfocitos intraepiteliales, ganglios linfáticos

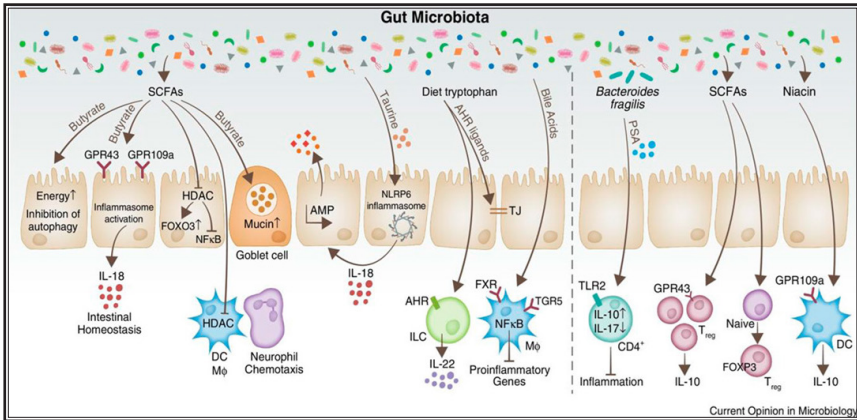
de menor tamaño, bajo nivel de inmunoglobulinas), y por tanto una gran susceptibilidad a las infecciones, pero que, sin embargo, pueden recuperar al ser colonizados. Esto indica que la inducción y regulación del sistema inmune depende en gran medida de la microbiota del intestino.

La superficie de la mucosa del tracto digestivo está formada por estructuras adaptadas a las funciones de contacto y comunicación entre el individuo y el medio externo. Esta comunicación incluye el reconocimiento inmunológico de las sustancias que circulan por el exterior del tubo digestivo.

Para que exista un equilibrio perfecto, el sistema tiene que distinguir claramente entre patógenos o patógenos potenciales, por un lado, y microorganismos comensales en simbiosis con el hospedador, por el otro. En el primer caso, el cuerpo necesita elementos de defensa adecuados, mientras que, en el segundo caso, tiene que saber ser tolerante para conseguir el beneficio de la simbiosis.

Los enterocitos del epitelio de la mucosa intestinal tienen un papel muy importante en este proceso, ya que su posición en contacto con la luz intestinal es importante (i) para el reconocimiento inicial de moléculas extrañas y (ii) para la transmisión de señales a las células inmunocompetentes del tejido subyacente.

En cuanto a la regulación de la respuesta inmune, la microbiota en el sujeto sano está en simbiosis homeostática con el huésped merced a una barrera epitelial intestinal que contiene altas concentraciones de IgA secretora (IgA S). Esta última, producida en las placas de Peyer y en la lámina propia, forma complejos con la microbiota de la luz intestinal y presenta selectivamente los componentes bacterianos a las células dendríticas, que inducen la producción de interleucina 10 (IL-10) antiinflamatoria, lo que contribuye al cambio de clase de la IgA S a IgA. Todo ello asegura una comunicación efectiva entre la microbiota y el sistema inmune, favoreciendo un ambiente de tolerancia hacia estos microorganismos, a la vez que estimula la actividad del sistema (Fig. 7)



7. Diferentes mecanismos de interacción de los metabolitos de la microbiota intestinal con las células del sistema inmune y del epitelio gastrointestinal. (Imagen: Levy et al., Current Opinion Microbiol (2017) 35: 8)

Por lo tanto, la naturaleza de la microbiota gastrointestinal que adquirimos en nuestros primeros meses de vida es fundamental para desarrollar de forma correcta nuestro sistema de defensa inmunitario. Una colonización incorrecta puede influir directamente en la aparición posterior de enfermedades inflamatorias de la mucosa intestinal o en problemas de autoinmunidad y alergias.

La influencia que las bacterias tienen en los demás sistemas del cuerpo es realmente notable, y ya hay estudios que vinculan los cambios en el microbioma intestinal con afecciones fisiológicas y neurológicas como asma, hipertensión, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, autismo, y esquizofrenia entre otras.

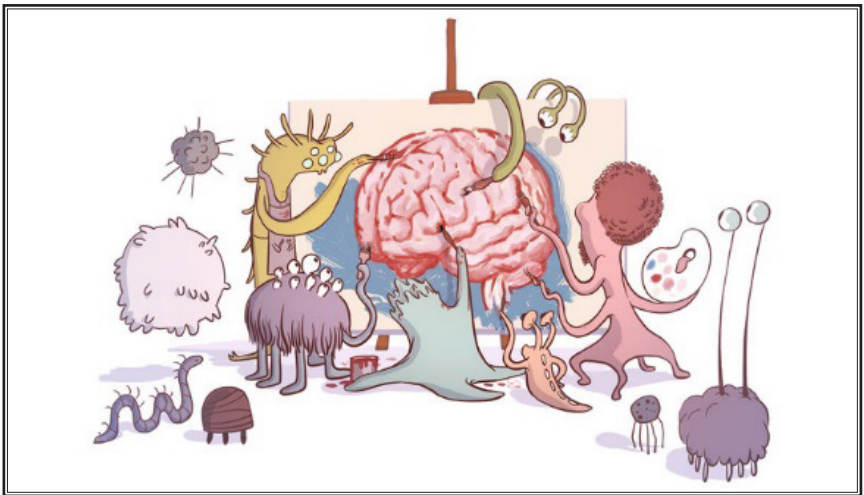
5.- Eje Microbiota-intestino-cerebro

Todos sabemos que en situaciones de estrés transitorio ciertas señales desencadenadas en el cerebro, pueden afectar a nuestra función intestinal y causar estreñimiento o diarrea. Sin embargo, ahora se sabe que si el estrés es prolongado puede incluso conducir a cambios en la composición de la microbiota.

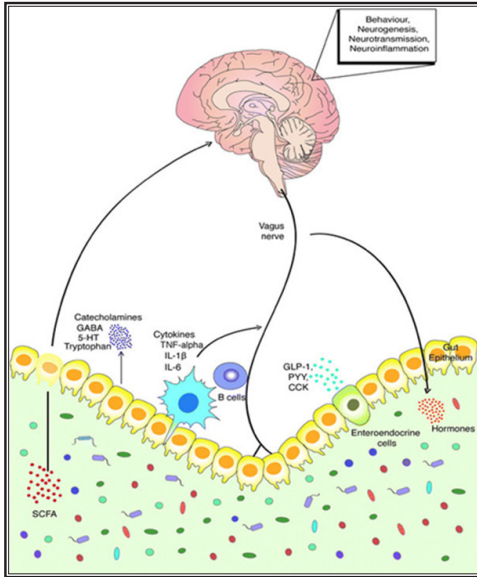
El sentido contrario también es posible: una composición alterada de la microbiota puede conducir a perturbar las señales en el cerebro y por lo tanto a afectar las funciones cognitivas (Fig. 8).

El descubrimiento del eje microbiota-intestino-cerebro es uno de los últimos hitos en la investigación del microbioma humano y las evidencias indican que se basa en un sistema bidireccional.

Por una parte, el cerebro puede afectar (a) indirectamente a la microbiota intestinal mediante cambios en la secreción, motilidad y/o permeabilidad intestinal, o (b) directamente por vía neuronal mediante la liberación de determinadas sustancias por parte de las células entero-



3. Representación cómica de la influencia de los microorganismos en el cerebro. (Ilustración de Benjamín Arthur)



9. El eje Microbiota-Intestino-Cerebro. (Imagen: Sberwin et al., *CNS Drugs* (2016) DOI: 10.1007/s40263-016-0370-3)

cromafines (EC) e inmunes. En la otra dirección, la microbiota intestinal se comunica con el cerebro mediante la estimulación directa de ciertos receptores a través del nervio vago o por vía humoral (Fig. 9).

Todos estos mecanismos pueden alterar la morfología y la neuroquímica cerebrales, en concreto, los niveles de GABA y serotonina. Por lo que la comunicación microbiota-cerebro puede estar implicada en la percepción del dolor visceral y en la modulación de la respuesta inmune y de las emociones.

Los experimentos iniciales han sido desarrollados en ratones, están en progreso la etapa de ensayos con sujetos humanos, ya que este campo resulta de gran relevancia no solo para los microbiólogos sino también para los especialistas en neurología, psicología y psiquiatría.

El interés central es llegar a conocer si al influir en la microbiota se pueden producir efectos en los cambios de estado de ánimo, en cómo se experimenta el estrés, o en la terapia de enfermedades como el Alzheimer, autismo, etc.

· Influencia de la microbiota en el sistema nervioso central

Los intestinos están rodeados por el sistema nervioso entérico (ENS), que controla el peristaltismo intestinal, el intercambio de fluidos a través de las mucosas y la secreción intestinal y que ha llegado a ser denominado en algunas ocasiones como nuestro “segundo cerebro”. El ENS tiene un vínculo directo con el sistema nervioso central a través del nervio vago, por el que transmite señales desde el intestino al cerebro

y viceversa. Si tenemos en cuenta que las bacterias intestinales juegan un papel clave en la interacción con el ENS, es lógico pensar que también estén implicadas en la generación de señales al cerebro.

Pero esta no es toda su misión, estudios realizados por Diaz Heitza y col., demostraron que la microbiota no solo era importante en la generación de señales sino también en el desarrollo del propio cerebro. Según estos autores durante el proceso de la Evolución la colonización de la microbiota intestinal se ha integrado en la programación del desarrollo cerebral, influyendo entre otros, en la actividad motriz y en el comportamiento frente a la ansiedad.

Los estudios de este grupo se llevaron a cabo comparando la actividad de ratones axénicos con ratones control, en el interior de un recinto cerrado.

Mediante diferentes tecnologías se comprobó que, una vez totalmente explorado el recinto (40 min), los ratones con microbiota permanecían quietos en los extremos de la caja, manteniendo niveles más altos de ansiedad que los axénicos. Este comportamiento se corresponde con el estado de alerta frente al ataque de un posible depredador, que lleva consigo el instinto de supervivencia.

Por el contrario, los ratones sin microbiota manifestaban una mayor actividad motora durante todo el tiempo que duró el experimento y además eran sensiblemente menos “prudentes” que sus compañeros. Este estado era reversible si se colonizaba a los ratones axenicos durante las primeras semanas de vida, pero resultaba ineficaz si se administraba la microbiota en la edad adulta. Es decir, una vez desarrollado el cerebro, el ratón quedaba condenado a ser temerario de por vida.

Otros estudios como los de Bravo y col. se centraron en ver si existía la posibilidad de mejorar los estados de ansiedad en ratones. Así, demostraron que el tratamiento con la cepa probiótica *Lactobacillus rhamnosus* conducía a una expresión diferenciada de ácido gamma-aminobutírico (o GABA) en regiones específicas del cerebro. También comprobaron que existía una reducción en los niveles de corticosterona inducidos por el estrés, lo que se vinculó a una notable disminución en el comportamiento relacionado con la ansiedad y la depresión.

Lo más interesante fue que esta mejora sólo se apreciaba en individuos con el nervio vago intacto, sugiriendo que este desempeña un papel crucial en cómo los probióticos y por ende la microbiota afecta al comportamiento.

· Papel de la barrera intestinal

Además de las vías específicas descritas anteriormente, la función de la barrera intestinal desempeña un papel importante en el eje intestino-cerebro. Como ya hemos comentado la microbiota y la barrera intestinal desempeñan conjuntamente un papel clave en la homeostasis y en la defensa del organismo contra los patógenos. Condiciones de estrés prolongado, consumo de drogas o infecciones pueden alterar la composición de la microbiota, interrumpiendo la integridad de la barrera intestinal. Si se rompe esta línea de defensa, se produce un aumento de la permeabilidad intestinal por lo que un gran número de sustancias inmunomoduladoras, como los lipopolisacáridos (LPS), pueden entonces introducirse en los tejidos. Esto conduce a menudo a una inflamación de bajo grado que se asocia con numerosas afecciones, incluyendo enfermedades inflamatorias intestinales y diabetes mellitus.

Este tipo de afecciones suelen conllevar a menudo estados de depresión, sugiriendo que podrían estar directamente vinculados a la existencia de un “intestino permeable”. Por otra parte, situaciones relacionadas con el estrés, como la ansiedad o ataques de pánico, han sido también directamente asociados con inflamación intestinal de bajo grado.

6.- Y volvemos a mirar al cielo. La microbiota en el espacio, ¿Un aspecto a controlar?

En los últimos años parece que se ha producido un interés en relanzar los programas de viajes espaciales. Esto hace que sea necesario conocer cómo se adaptaría la microbiota a este nuevo reto.

Un estudio publicado en el 2017 evaluó la adaptación y cambio de la microbiota en un ecosistema que simulaba un viaje tripulado a Marte (Misión Mars 500). Durante 520 días el equipo compuesto por seis hombres, permaneció confinado en un espacio que simulaba el interior de una nave espacial y una pequeña área de superficie marciana.

La tripulación siguió la misma rutina que llevarían durante el viaje, incluyendo maniobras de navegación, experimentos científicos, ejercicio físico, etc. Paralelamente, se recogieron muestras de aire y de diversas superficies para estudiar el microbioma ambiental y su evolución en el tiempo, comparándolas con las que se habían tomado antes de empezar la simulación, y seis meses después.

Tanto la abundancia como la composición de las poblaciones microbianas fluctuaban a lo largo del tiempo, con una tendencia hacia una disminución de la diversidad, y al establecimiento de comunidades específicas en cada uno de los compartimentos reflejando el tipo de actividad que se realizaba en ellos.

Por lo tanto, los datos mostraron que incluso en un hábitat cerrado el microbioma es dinámico y se adapta a las condiciones de cada micro-ambiente.

Ya hemos comentado que la salud intestinal afecta a muchas funciones vitales, por lo tanto, el estudio de cómo se comportan las bacterias del intestino fuera de la órbita terrestre puede ofrecer también información interesante.

En el mes de abril se publicó en la revista Science un artículo que recoge cómo el vuelo espacial afecta al cuerpo humano mediante comparación de los datos de dos gemelos idénticos Mark & Scott Kelly.

Mark proporcionaba la referencia para la observación en la Tierra, y Scott la prueba comparable en el espacio. De esta forma se pretendía analizar los cambios biológicos, fisiológicos incluso psíquicos asociados con su larga estancia espacial (340 días).

Se recolectaron muestras fecales antes, durante y después de regresar a la Tierra, para estudiar si la composición de las bacterias había cambiado durante este tiempo.

La proporción entre los dos grupos principales de bacterias del microbioma de Scott Kelly experimentó un cambio pronunciado durante los vuelos espaciales, de manera que el número de Firmicutes aumentó mientras que los Bacteroidetes disminuyeron, si bien la proporción volvió a la normalidad cuando regresó a la Tierra.

No se encontraron cambios en la biodiversidad de los microbios intestinales y las diferencias en la población de virus, bacterias y hongos fueron similares a las que se describen en otros estudios hechos con gemelos idénticos, que viven en la Tierra.

Con respecto a los otros parámetros analizados Scott volvió a la Tierra cinco centímetros más alto que su hermano y con una mayor longitud de sus telómeros. Por lo tanto, la aventura espacial rejuveneció a Scott, pero no pareció afectar mucho a sus bacterias.

7.- El microbioma como agente terapéutico

El presente: El trasplante fecal

El objetivo del trasplante fecal es restaurar los microorganismos del intestino a partir de la microbiota de un donante.

Es muy frecuente que tras un tratamiento con antibióticos las bacterias intestinales se resientan alterándose su diversidad durante cierto tiempo. Esto puede permitir que otras bacterias potencialmente patógenas, como *Clostridium difficile*, se expandan produciendo una

toxina que al dañar el epitelio intestinal causa episodios de diarrea.

Algunas cepas de *Clostridium difficile*, como el tipo 027, son especialmente graves y el tratamiento suele consistir en la ingesta de antibióticos, como la vancomicina. Sin embargo, en aproximadamente el 25% de los pacientes no es efectivo y se producen diarreas recurrentes.

Diferentes estudios han demostrado que el tratamiento con heces de donantes sanos es más efectivo (94%) para curar la infección por *Clostridium difficile* que el uso de la vancomicina (28%).

En estos ensayos, se prepara una solución con las heces de un donante sano, que previamente han sido analizadas para que no contengan parásitos, bacterias o virus patógenos, así como cualquier otro tipo de patología transmisible. Dentro de las 6 horas posteriores a su obtención, la solución se introduce a los pacientes mediante un tubo nasoduodenal o colonoscopia.

El resultado suele ser óptimo, observándose una gran eficacia en el tratamiento de la infección recurrente por *Clostridium difficile*. Los efectos secundarios son mínimos y el análisis de la microbiota intestinal de los pacientes después del trasplante es similar a la de los donantes.

En estos momentos ya existen bancos de heces en tres ciudades españolas y se está trabajando en la obtención de otras vías de administración.

Es tal la divulgación actual de este tipo de terapia en la prensa y redes sociales que como siempre ya hay quien recomiende prepararse su propio coctel fecal o bien guardar las heces congeladas con el fin de usarlas para recolonizarnos si nos enfrentamos a un periodo de enfermedad.

El futuro: Manipular los microorganismos de nuestro microbioma para usarlos como ayudantes terapéuticos

Sabemos que una microbiota sana es sinónimo de buena salud, por ello intentamos mantenerla con alimentos probióticos, prebióticos o simbióticos, cada vez más sofisticados y mejor diseñados.

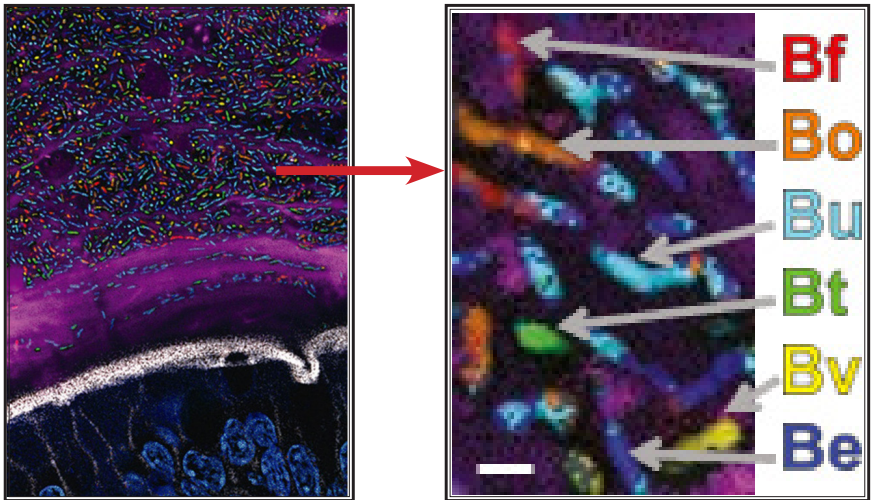
Sin embargo, manipular la microbiota es muy complicado al ser un consorcio con millones de interacciones entre los propios microorganismos y nuestras células.

Una de las bacterias más abundantes en el intestino es el género *Bacteroides*, por lo que podía ser un buen candidato a la modificación, pero hasta ahora no se habían desarrollado herramientas que lo permitieran ya que los promotores que regulan la expresión de los genes de *Bacteroides* son diferentes a los de otras bacterias, lo que hacía que muchos vectores de expresión no funcionaran.

Recientemente Whitaker y col. han desarrollado una construcción genética que integran en el genoma de *Bacteroides* y que permite a la bacteria sintetizar grandes cantidades de una nueva proteína “in vivo” sin afectar su estabilidad y viabilidad, por lo que sigue siendo capaz de colonizar el intestino.

Para comprobarlo, los investigadores introdujeron esa construcción genética en seis especies distintas de *Bacteroides*, de manera que en cada una de ellas se producía una proteína fluorescente diferente, lo que permitía posteriormente diferenciarlas.

Infectaron ratones de laboratorio con una mezcla de las bacterias marcadas, y al cabo de unos días, comprobaron que todas habían colonizado el intestino y se podían distinguir individualmente según su fluorescencia (Fig. 10).

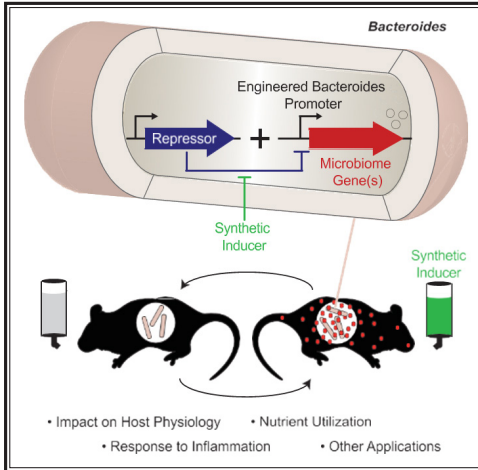


10. Detección simultánea *in vivo* de seis especies de *Bacteroides*. Imagen: Whitaker et al., *Cell* (2017) 169: 538

Más allá del sondeo de la ecología intestinal, la importancia del trabajo radica en que la capacidad de diseñar comensales intestinales crea una vía para desarrollar nuevas modalidades de diagnóstico y de terapias celulares.

En este sentido abunda otro trabajo, en el que los investigadores idearon una estrategia para construir un vector genético que permitiera controlar la expresión de un gen en *Bacteroides* mediante el empleo de un inductor sintético (anhidrotetraciclina). Así, en ausencia del inductor la expresión del gen se reprime totalmente, mientras que la adición del mismo rápidamente activa el gen que conduce, en este caso, a la síntesis de una proteína fluorescente.

Para comprobar que el sistema funcionaba *in vivo*, añadieron *Bacteroides* modificados con el vector a un grupo de ratones. Posteriormente, evaluaron la presencia de las bacterias en el intestino y en las heces del ratón, y vieron que solo eran fluorescentes cuando a los ratones se les había dado el inductor en el agua de bebida, desapareciendo a los tres días de retirarlo (Fig. 11).



11. Expresión de un gen en *Bacteroides* mediante el empleo de un inductor administrado al huésped. Imagen: Lim et al., *Cell* (2017) 169: 547

También confirmaron que la presencia de la bacteria modificada no afectaba al resto de la microbiota normal del ratón y que funcionaba para varias especies de *Bacteroides* por lo que podía ser empleado para manipular genéticamente un amplio rango de bacterias.

Con el empleo de este tipo de construcciones se podría proporcionar un agente terapéutico o una enzima concreta bajo demanda *in vivo* de manera que en el momento

en que se ingiera el inductor, el *Bacteroides* modificado expresaría el gen y liberaría la molécula adecuada.

El sueño: El Microbioma como herramienta para rejuvenecer y alargar nuestra esperanza de vida

Hasta ahora, se desconoce si manipular la composición intestinal podría afectar el proceso de envejecimiento, pero ¿podría el cambio de una microbiota adulta por otra más joven conseguir que se alargara nuestra esperanza de vida?

Estudios realizados con animales de vida corta como el pez Killi turquesa (*Nothobranchius furzeri*) (solo vive unos pocos meses en cautividad), se han empleado como base para investigar la influencia de un cambio de microbiota en el proceso de envejecimiento.

Los peces turquesa tienen una microbiota intestinal compleja y al igual que en el ser humano la diversidad disminuye conforme envejecen, de manera que el intestino de los jóvenes es más rico en los grupos *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Actinobacteria*, mientras que en los

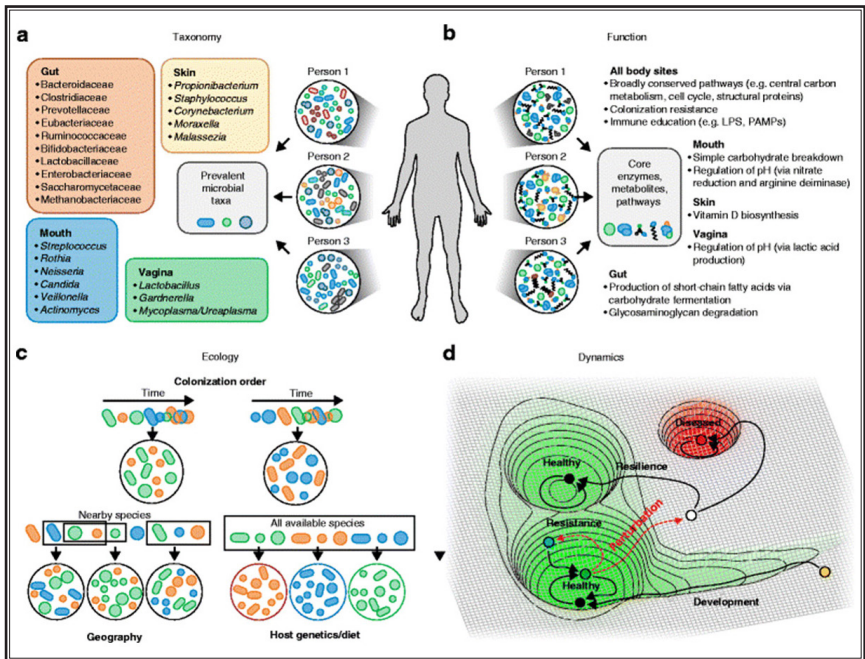
adultos predominan las *Proteobacterias*.

El experimento se basó en recolonizar el intestino de los peces adultos con bacterias de donantes jóvenes y ver su influencia en la calidad y duración de su vida.

Para ello inicialmente se trataron a los adultos con un coctel de antibióticos para reducir su microbiota y favorecer la colonización.

Los resultados demostraron que el trasplante de microbiota aumentaba de forma significativa la esperanza de vida de los peces adultos alargándose de 20 a las 30 semanas.

Además, los peces trasplantados seguían siendo más activos y se retrasaban algunos efectos típicos de la edad adulta. Se previno de forma duradera la disminución de la diversidad microbiana, lo que se asoció al mantenimiento de un sistema inmune saludable, con efectos anti inflamatorios sobre el animal.



12. Hipotético modelo de microbiota ideal. (Imagen: Lloyd-Price et al., *Genome Med.* (2016) 8: 51)

Estos resultados sugieren que quizás en un futuro, el control de la composición de los microbios del intestino podría mejorar la salud y aumentar la esperanza de vida de los seres humanos manteniendo unas condiciones mentales y físicas adecuadas.

En cualquier caso, aún queda mucho por investigar hasta que consigamos determinar cuál es la microbiota considerada idealmente perfecta (Fig. 12).

Muchas gracias a todos por su atención



**Colegio Oficial
de Farmacéutico
de la Provincia
de Alicante**

MICOF

MUY ILUSTRE COLEGIO OFICIAL
DE FARMACÉUTICOS DE VALENCIA

**ICOF
CS**



**Il·lustre
Col·legi Oficial
de Farmacèutics
de Castelló**