FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

RELACIÓN DE LA INMUNIDAD EN MUCOSAS Y LA MICROBIOTA CON LAS ENFERMEDADES INFLAMATORIAS

RELATIONSHIP BETWEEN MUCOSAL IMMUNITY AND MICROBIOTA WITH INFLAMMATORY DISEASES

Autora: Dña. Sara Martínez Castro

Director: D. Ramón Merino Pérez

Santander, Junio 2015

Índice de contenido

RESUMEN 2

INTRODUCCIÓN 2

Qué es la microbiota 2

Funciones de la microbiota 3

Tipos y composición 3

Disbiosis 4

Sistema inmune y microbiota 6

Comunicación 6

Barrera mucosa 7

Moco 7

Epitelio intestinal 8

Sistema inmune 11

Respuesta inmune de las mucosas 17

Situación fisiológica 17

Situación patológica 19

PATOLOGÍA INFLAMATORIA SISTÉMICA. RELACIÓN ENTRE LA MICROBIOTA Y EL SÍNDROME METABÓLICO 20

Visión actual del SM 20

Epidemiología y problema socioeconómico 21

Obesidad e inflamación 22

Obesidad y microbiota 24

Factores modificadores de la microbiota 24

Microbiota, metabolismo e inflamación 27

Inflamación y SM 29

Posibilidades de tratamiento y prevención del SM 31

CONCLUSIÓN 34

ABREVIACIONES 35

BIBLIOGRAFÍA 37

RESUMEN

Existe un equilibrio perfecto entre el ser humano y la comunidad bacteriana que lo coloniza, denominada microbiota. Nuestro organismo está habitado por millones de bacterias establecidas en comunidades que sobreviven gracias al microambiente que las personas le proporcionamos, a cambio de que cumplan sus funciones en el mantenimiento de la homeostasis. El reciente descubrimiento de esta compleja interacción y su importancia en el desarrollo de enfermedades ha abierto un importante camino en la investigación médica, ya que puede ayudarnos a entender la alteración que subyace a los procesos patogénicos que hasta ahora eran incomprendidos. A través de la lectura de más de 50 trabajos de revisión y artículos originales publicados en los últimos 10 años, este trabajo se centra en el desequilibrio que diversos factores provocan en la microbiota intestinal como posible causa de la activación de una respuesta inflamatoria, relacionada con el desarrollo de obesidad y el síndrome metabólico (SM). Comprender la secuencia de alteraciones podría permitir desarrollar terapias más efectivas frente a los trastornos mencionados, tan prevalentes en el mundo occidental actual.

Palabras clave: microbiota, obesidad, respuesta inflamatoria, síndrome metabólico.

There is a perfect balance between human being and the bacterial community living inside, known as microbiota. Our body is inhabited by millions of different bacteria established in communities that survive thanks to the environment humans provide in exchange for executing some functions in the maintenance of homeostasis. The recent finding of this complex interaction and its importance in the development of various diseases has opened an important way in medical research, as it could help us to understand the underlying abnormalities of pathogenic processes not well understood until now. Through the study of more than 50 reviews and original papers published in the last 10 years, this paper focuses on the various factors causing imbalance in the intestinal microbiota as a possible cause in the activation of an inflammatory response, related to the development of obesity and metabolic syndrome (SM). Understanding the sequence of the alterations could allow the development of more effective therapies to deal with these so prevalent disorders in today´s Western world.

Keywords: microbiota, obesity, inflammatory response, metabolic syndrome.

INTRODUCCIÓN

Qué es la microbiota

El término microbiota se refiere a la comunidad de microorganismos que habitan en un nicho ecológico determinado. En relación al ser humano, es cada una de las comunidades microbianas que habitan en nuestro cuerpo y que crean una relación

estrecha con nuestro sistema inmune (SI). Recubren la piel y las mucosas desde la cavidad oral hasta el ano, y es su presencia la que ayuda a establecer el tono del SI sistémico. Sin ellas, no sería posible la supervivencia en el medio. (Hooper & Macpherson, 2010)

El único momento en el que el ser humano es completamente estéril es durante la vida fetal. Una vez rotas las membranas, el contacto con el exterior va a provocar que el neonato sea colonizado por la microbiota del tracto genital de la madre y las bacterias del medio externo, que van a invadir progresivamente su cuerpo (Sommer & Bäckhed, 2013). El hecho de que la proporción de cada tipo de microorganismos varíe en las diferentes partes del cuerpo se debe a la facilidad de adaptación de cada tipo de bacterias a un ambiente determinado; esto se denomina "tropismo tisular", y se relaciona con la genética del huésped y la exposición al medio. (Veldhoen & Brucklacher-Waldert, 2012)

Funciones de la microbiota

Se puede afirmar que la colonización bacteriana es inevitable y necesaria. La microbiota intestinal constituye un órgano adicional para el ser humano: se encarga de promover la morfogénesis del tracto gastrointestinal, es necesaria para la producción de vitaminas y el metabolismo de algunos nutrientes, protege frente a patógenos oportunistas, participa en la diferenciación del SI e influencia la remodelación del sistema vascular[1] (Okada, Kuhn, Feillet, & Bach, 2010). Además, los comensales son un inductor fundamental y crítico de las respuestas reguladoras, ya que el establecimiento de la tolerancia inmunológica no podría ocurrir en ausencia de señales derivadas de la microbiota. (Belkaid & Naik, 2013)(Brown, Sadarangani, & Finlay, 2013) (Chu & Mazmanian, 2013)(Aychek & Jung, 2014)

Tipos y composición

De un modo simple, la microbiota se puede dividir en dos grupos: residente o colonizadora, presente en casi toda la vida del individuo, no muestra grandes fluctuaciones; y transitoria o contaminante, que muda de forma constante por diferentes causas como la dieta, el uso de antibióticos, la edad o el clima. La relación que la microbiota establece con el huésped puede ser de tres tipos: comensal, mutualista o parásita (Belkaid & Hand, 2014). En el mutualismo, tanto las bacterias como el huésped obtienen algún beneficio de la interacción. En el comensalismo, la bacteria obtiene beneficio del huésped sin perjudicarlo. En el parasitismo, la bacteria produce daño al huésped para obtener su propio beneficio. Sin embargo, una bacteria puede ser colonizadora en la mucosa vaginal y contaminante en la mucosa oral, o establecer una relación mutualista, parásita o comensal en función del contexto del huésped (nutrición, coinfección, marco genético…).

[1] La colonización del intestino por ratones libres de gérmenes causa reestructuración de las vellosidades intestinales, que se acortan y se amplían para prevenir la infiltración microbiana. La reestructuración aumenta la demanda de oxígeno en el epitelio intestinal y lleva a un aumento del número de células endoteliales y, en consecuencia, a la angiogénesis. (Sommer & Bäckhed, 2013)

La microbiota residente en el intestino humano es una de las comunidades más densamente pobladas. El intestino grueso de un mamífero cuenta con más de 10^{14} microorganismos (Hooper & Macpherson, 2010) pertenecientes a unas 500 especies, una cifra mayor que la que podemos encontrar en el suelo, por ejemplo. Tras diversos estudios de la microbiota intestinal se han encontrado cinco *phyla* principales: *Firmicutes, Bacteriodetes, Actinobacteria, Proteobacteria* y *Verrucomicrobia.* Dentro de estos, los subtipos predominantes ("enterotipos") son *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus.* (Tremaroli & Bäckhed, 2012) (Fukuda & Ohno, 2014) (Tremaroli & Bäckhed, 2012)

Las bacterias no patógenas de la microbiota intestinal se clasifican en (Ivanov & Honda, 2012):

a) Autobiontes: forman parte de la microbiota normal, y tienen influencia directa en la homeostasis o la función de las células inmunes del huésped. Son *Bacteroides fragilis, Segmented filamentous bacteria* (SFB), entre otros ejemplos.
b) Patobiontes: son bacterias que no causan enfermedad en presencia de una microbiota normal en el huésped sano, pero que producen enfermedad cuando la inmunidad del éste se encuentra afectada[2]. Son *Prevotella spp., Helicobacter hepaticus…*

Disbiosis

El intestino ofrece a la microbiota un ambiente protegido y rico en nutrientes, en el que se puede establecer un ecosistema estable a la vez que flexible y resistente (Brown et al., 2013). A cambio, el huésped se aprovecha de la digestión bacteriana que abastece de vitaminas y nutrientes. Esta aparente relación perfecta plantea, sin embargo, un gran desafío para el organismo: el huésped debe tolerar comensales beneficiosos y a la vez permitir respuestas de protección rápidas frente a patógenos invasores. Cuando falla algo en este sistema se produce la "disbiosis", un estado de desequilibrio en la composición microbiana que da lugar a múltiples repercusiones en el organismo como las que se representan en la **figura 1** (Kamada, Chen, Inohara, & Núñez, 2013).

La disbiosis puede predisponer al individuo a una gran variedad de enfermedades que van desde la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) o el cáncer de colon, al SM (que incluye obesidad, resistencia a la insulina o arterioesclerosis, entre otras). Aunque en principio no se encuentre una causa común a todas ellas, se ha visto que la alteración subyacente para su desarrollo podría ser la alteración de la microbiota intestinal, a través de múltiples causas como las que aparecen ejemplificadas en la **figura 2** (Tremaroli & Bäckhed, 2012).

[2] Tratamientos antibióticos u otros factores ambientales que dañen la comunidad microbiana comensal en el intestino producen una disminución en la resistencia a la colonización por patógenos (por ejemplo, *Salmonella*) y permiten el crecimiento excesivo de otros organismos patógenos (por ejemplo, *C. difficile*) que tienen el potencial de diseminarse de forma sistémica e inducir shock séptico y/o infección de órganos sistémicos. (Kamada et al., 2013)

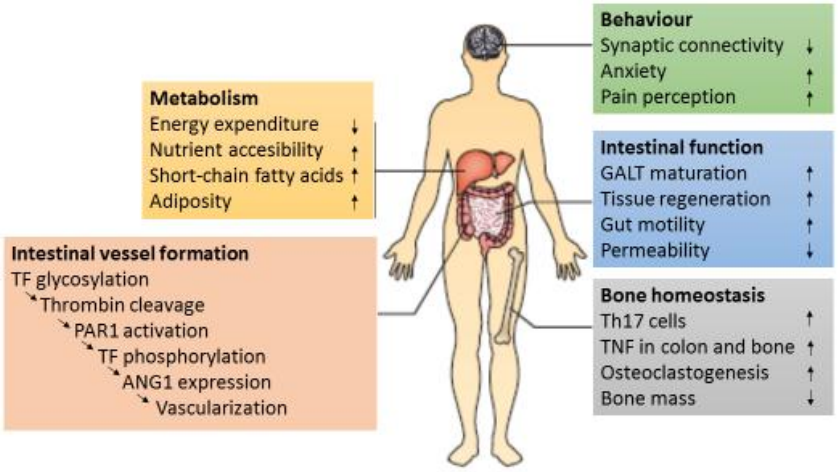

Figura 1. Impacto de la microbiota en la fisiología del huésped (Sommer & Bäckhed, 2013)**.** Las flechas representan efectos estimuladores o inhibidores de la microbiota intestinal sobre procesos fisiológicos en el huésped. La microbiota actúa en el metabolismo disminuyendo el consumo energético y aumentando la accesibilidad a los nutrientes, la producción de SCFAs (*short chain fatty acids*) y el acúmulo de grasa. A nivel intestinal, la microbiota promueve el desarrollo del tejido linfoide, la regeneración del tejido intestinal y el aumento de la motilidad; también disminuye la permeabilidad del intestino, promoviendo la integridad de la barrera. Por otro lado, influye sobre la morfogénesis de los capilares sanguíneos en el intestino, a través del aumento de la glucosilación del TF (factor de tejido), que lleva a una cascada de eventos que promueven el aumento de la vascularización. Los cambios en la composición de la microbiota o la ausencia de ésta afectan al metabolismo, al comportamiento y a la homeostasis de los tejidos. En el SNC (Sistema Nervioso Central), disminuyen las conexiones sinápticas y aumentan la ansiedad y la percepción del dolor. A nivel óseo, la microbiota puede influir en la disminución de la densidad ósea promoviendo la actividad de los osteoclastos y aumentando el número de células proinflamatorias Th17.

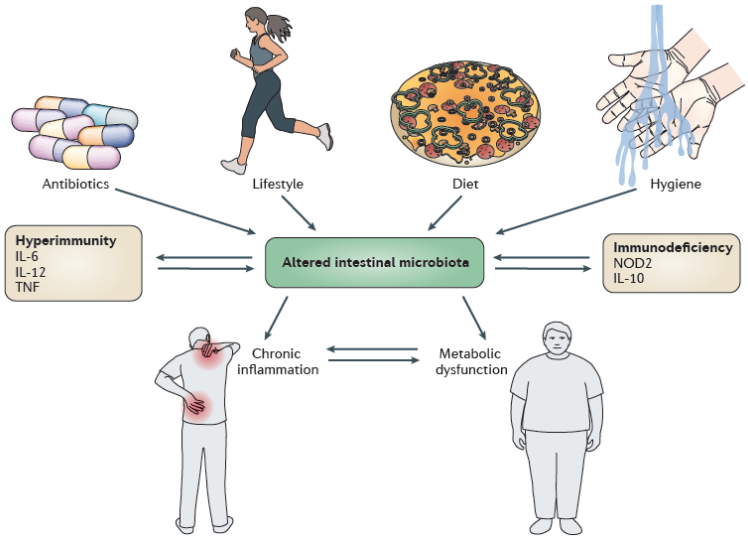

Figura 2. Factores que modifican la composición de la microbiota intestinal y efectos de la disbiosis sobre la salud del huésped (Tremaroli & Bäckhed, 2012). La composición de la microbiota intestinal sufre continuos cambios debido a influencias endógenas y exógenas. Factores como el estilo de vida, la dieta, los hábitos higiénicos o el consumo de antibióticos provocan alteraciones en la composición bacteriana que pueden dar lugar a problemas relacionados con hiperactivación de la respuesta inmune o, por el contrario, a algún tipo de inmunodeficiencia. Cuando las modificaciones se cronifican se desarrolla obesidad y/o patologías derivadas de la inflamación crónica, ambas condiciones altamente prevalentes en los países más desarrollados.

SISTEMA INMUNE Y MICROBIOTA

El organismo necesita contar con mecanismos para evitar que un daño tisular lleve a una invasión del huésped por agentes patógenos (Aychek & Jung, 2014). Esta tarea es ardua, por lo que hay diferentes estructuras encargadas, destacando el SI como pieza clave. El desarrollo de las ramas de este sistema, innata y adaptativa, ocurre al mismo tiempo que la adquisición de la microbiota compleja, y es ésta la que calibra múltiples aspectos del SI[3]. Desde nuestro nacimiento, la leche materna contiene factores como microbios vivos, metabolitos, inmunoglobulina A (IgA) y células de la inmunidad, que definen las respuestas tempranas a los comensales. Todos estos tienen efectos sinérgicos para dar forma a la microbiota del neonato, y para la respuesta del huésped a los microorganismos. La capacidad para aceptar la microbiota se debe a la inmadurez relativa del SI del neonato, creando un ambiente tolerogénico que define la vida temprana de los mamíferos (Belkaid & Naik, 2013).

El SI en desarrollo no responde de forma tan potente a ataques patógenos en comparación con el SI de un adulto sano. Esta alta susceptibilidad a la infección es la que sirve para el establecimiento de la microbiota sin inflamación evidente, o con un estado de inflamación crónica de bajo grado[4] (Aychek & Jung, 2014). Sin la presencia de los comensales no sería posible el desarrollo de las estructuras linfoides secundarias[5], como las placas de Peyer en el tracto gastrointestinal (TGI) (Hooper & Macpherson, 2010). Tampoco acontecerían de forma correcta la maduración de las células epiteliales intestinales (IECs) ni la angiogénesis. La evidencia más clara de la importancia de la microbiota para el desarrollo del SI es su atrofia en animales libres de gérmenes, que son animales que nacen y se crían aislados del contacto con microorganismos[6].

Comunicación

La mayoría de las células inmunes del cuerpo residen en lugares colonizados por comensales, como la piel o el TGI. Para proteger la integridad de estos, la microbiota sana debe reforzar la actividad de la barrera inmunitaria, por lo que debe existir una comunicación efectiva entre ambas partes. Esta comunicación no se establece siempre de la misma manera, ya que se puede ver modificada por diversos factores. Uno de los más relevantes es la dieta, que interacciona tanto con la microbiota como con el SI, influyendo así sobre la interacción que estos tienen entre sí (ver **figura 3**). Por ejemplo,

---

[3] El comensal humano *Bacteroides fragilis* produce el polisacárido A (PSA) que dirige la maduración del sistema inmune de los mamíferos, promoviendo de forma específica el desarrollo y la función de las células T reguladoras $Foxp3^+$ (Treg) por señalización directa a través de Toll-like Receptor 2 (TLR2). (Chu & Mazmanian, 2013)

[4] Estudios recientes en neonatos revelan que una población definida de eritrocitos contribuye al mantenimiento del ambiente inmunoregulador y limita la inflamación mucosa que sigue a la colonización con la microbiota. Exposiciones tempranas del huésped a los comensales puede también reprimir a las células implicadas en respuestas inflamatorias como linfocitos T Natural Killer invariables (iNKT), un efecto que tiene consecuencias a largo plazo para la capacidad del huésped de desarrollar enfermedades inflamatorias. Una publicación reciente ha propuesto que el control puede ser mediado por la interacción directa, temprana en la vida, de esfingolípidos derivados de los comensales con las células iNKT. (Belkaid & Hand, 2014)

[5] Las estructuras linfoides están muy influenciadas por los millones de bacterias comensales que penetran a los tejidos del huésped, a pesar de que la inducción de respuestas inmunes adaptativas por las bacterias comensales son nulas o están muy limitadas en huéspedes inmunocompetentes. (Hooper & Macpherson, 2010)

[6] La microbiota es vital para el desarrollo de las estructuras linfoides secundarias. Esto es fundamental en el TGI, donde ratones libres de gérmenes se caracterizan por tener placas de Peyer más pequeñas y un número menor de linfocitos T (LT) CD4+ y células plasmáticas productoras de IgA. (Brown et al., 2013)

ratones alimentados con una dieta rica en grasas tienen alteradas las comunidades microbianas comensales, lo que afecta al almacenamiento de energía y puede alterar la inmunidad, así como incrementar la severidad de enfermedades como la CU (Devkota et al., 2012). Deficiencias alimentarias también pueden alterar la comunidad, como el déficit de vitamina A, que es necesaria para la inducción de la respuesta inmunitaria protectora (Cha et al., 2010). Así mismo, el SI puede afectar al estado nutricional, ya que se ha visto que ratones carentes de linfocitos B (LB) desarrollan deficiencias en la absorción de ciertos alimentos (Shulzhenko et al., 2011).

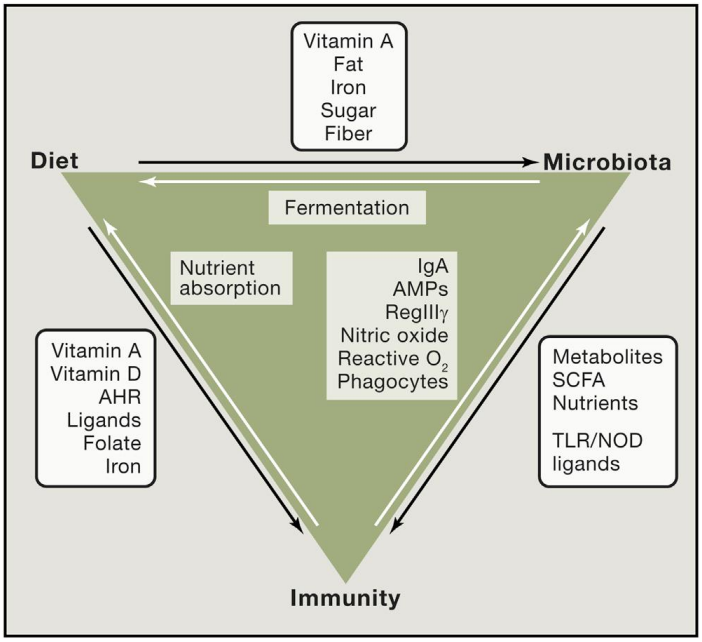

Figura 3. Interdependencia entre dieta, inmunidad y microbiota. La dieta puede tener gran influencia sobre el SI, y el SI puede afectar a la absorción de los nutrientes. La dieta también tiene una poderosa influencia sobre la composición y la capacidad metabólica de las bacterias comensales, lo cual, a cambio, tiene influencia sobre la absorción de nutrientes. El SI es capaz de influir sobre la composición y la localización de los comensales microbianos, mientras las señales de los comensales son críticas para el desarrollo y la función del SI (Belkaid & Hand, 2014).

BARRERA MUCOSA

En el TGI, cuna de la mayor densidad de comensales, la correcta separación entre los microorganismos del lumen y la superficie de las IECs para la protección frente a la invasión bacteriana se realiza gracias a la "barrera mucosa". Ésta consta de la acción combinada del moco, el epitelio intestinal y el SI (ver **figura 4**). (Yeretssian, 2012)

Moco

La capa mucosa limita el contacto microbiota-tejidos del huésped, evitando la translocación bacteriana. Las células caliciformes o de Goblet situadas en el epitelio intestinal son las encargadas de secretar las glicoproteínas de mucina que forman una capa de consistencia viscosa de hasta 150 µm sobre la superficie intestinal. Ésta cuenta con dos estratos diferentes:

a) Interno: capa densa libre de bacterias que protege la superficie del epitelio[7].

[7] Ratones que carecen de la glicoproteína de mucina MUC2 no tienen la zona libre de bacterias y desarrollan inflamación intestinal espontánea. (Hooper & Macpherson, 2010)

b) Externo: aloja a las bacterias comensales que se alimentan de los glicanos y previenen la multiplicación de otros microorganismos así como la adhesión a las IECs, modulando su respuesta y la de otras células.

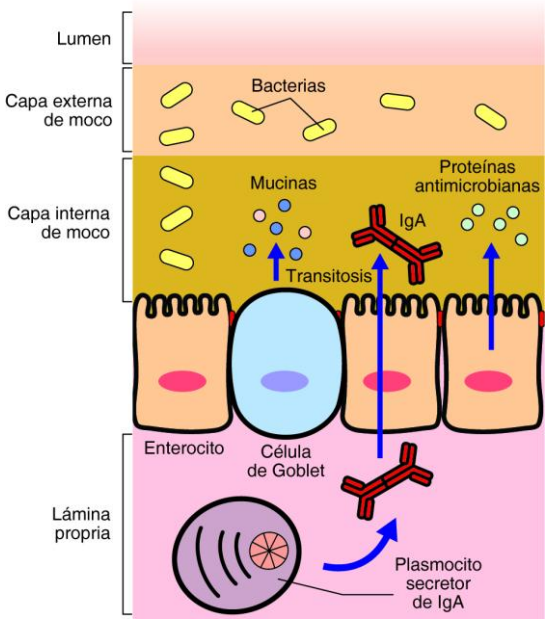

Figura 4. Estructura de la barrera mucosa. Al lumen intestinal llegan antígenos procedentes del exterior y la barrera tiene una función principal en la protección para impedir que penetren y ataquen el organismo. Estructuralmente se divide en capas bien diferenciadas, que de la luz intestinal hacia el interior son: capa mucosa externa, capa mucosa interna, epitelio intestinal y lámina propia.

En el intestino delgado, esta capa es discontinua y permite la correcta absorción de nutrientes; sin embargo, es muy importante para la inmunidad en el intestino grueso (ver **figura 5**). Algunos microorganismos han desarrollado estrategias para penetrar la barrera mucosa y llegar a la superficie epitelial[8].

Epitelio intestinal

El epitelio intestinal es el tejido que recubre la luz intestinal. Está formado por una monocapa de IECs que actúa de forma pasiva como una barrera estructural, y a la vez como un elemento de intercambio de información. A través de este intercambio consigue controlar la microbiota[9], utilizando diferentes recursos como la producción de AMPs (péptidos antimicrobianos) (Chu & Mazmanian, 2013).

Esta estructura ejerce su función de barrera mediante uniones estrechas entre sus células, lo que ayuda a mantener la integridad tisular. Así impide la translocación bacteriana y regula el intercambio de antígenos y nutrientes. Está formado por distintos tipos celulares, representados en la **figura 6** (Veldhoen & Brucklacher-Waldert, 2012). Además, el epitelio expresa distintos Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRRs)[10] que le dan la capacidad de recibir señales tanto de organismos en simbiosis

[8] Un ejemplo es el de *Helicobacter pylori*, que libera ureasa para aumentar el pH a su alrededor disminuyendo la viscosidad de la capa mucosa y permitiendo a la bacteria llegar hasta la superficie del epitelio gástrico (Hooper & Macpherson, 2010).

[9] La demostración de que *B. fragilis* y *B. breve* median una respuesta inmune adaptativa beneficiosa vía señalización TLR revela una profunda simbiosis coevolutiva, basada en el "diálogo molecular" usando el sistema PRR (Receptor de Reconocimiento de Patrón). (Chu & Mazmanian, 2013)

[10] Los PRRs son moléculas expresadas fundamentalmente por las células de la inmunidad innata y adaptativa, así como por las células del epitelio intestinal, cruciales en el mantenimiento de la homeostasis de la microbiota intestinal. Hay dos tipos básicos: TLRs y Nuclear Oligomerization Domain-like Receptors (NLRs), que reconocen

como patógenos, y de responder a ellas de forma diferente para el microbio (eliminación frente a simbiosis) y para el huésped (inflamación frente a homeostasis inmune). Los PRRs reconocen bacterias, induciendo señales que regulan (activan o inhiben) la activación del SI subyacente, y se induce la producción de AMPs de forma directa sin la necesidad del SI.

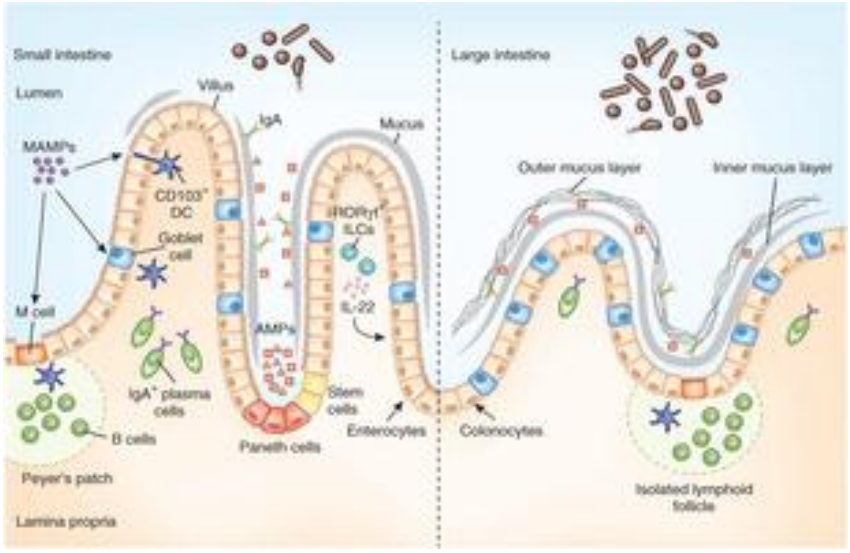

Figura 5. Diferencias en la estructura de la capa mucosa en el intestino delgado y grueso (Brown et al., 2013)**.** El contenido anatómico de la microbiota muda a lo largo del intestino. El epitelio intestinal está compuesto por una capa simple de enterocitos, y el SI se encarga de proteger su integridad. En el intestino delgado, donde es necesaria la absorción de los nutrientes, la capa de moco es discontinua, con pocas células caliciformes productoras de moco. Sin embargo, en el intestino grueso es espesa y continua, para compartimentalizar la microbiota. Aquí no es necesaria una protección tan potente por los productos derivados de células de la inmunidad como la IgA y los AMPs, en comparación con su función en el intestino delgado.

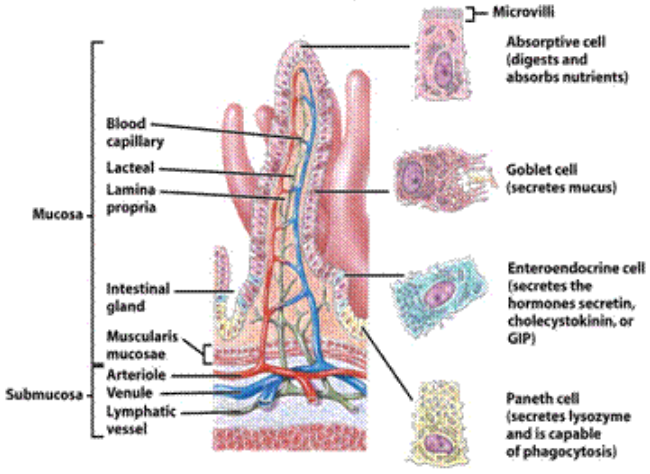

Figura 6. Vellosidad intestinal: tipos celulares (Hall, 2010). El epitelio intestinal está formado por los enterocitos, células M, células caliciformes secretoras de glicoproteínas, células enteroendocrinas productoras de hormonas y células de Paneth productoras de AMPs. Cada tipo celular tiene su función concreta: los enterocitos participan en la digestión y absorción de nutrientes, las células de Goblet secretan moco, las células enteroendocrinas se encargan de la liberación de hormonas, y las células de Paneth participan en la fagocitosis de productos de desecho.

patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) como lipopolisacáridos, lípido A, peptidoglicanos, flagelos o DNA/RNA microbiano, dando lugar a diferentes cascadas de señalización. La interacción PRRs-PAMPs promueve la función de la barrera mucosa, regulando la producción de componentes como glicoproteínas de mucina, péptidos antimicrobianos (AMPs), IgA e IL22 (Interleucina 22), entre otros. Una pérdida de estos receptores de reconocimiento lleva a alteración de la composición microbiana y defectos en la barrera intestinal que pueden dar lugar a cambios en la composición de la microbiota y la invasión microbiana de órganos sistémicos (Brown et al., 2013), lo cual puede precipitar el desarrollo de cáncer de colon (Abreu, 2010) (Yeretssian, 2012).

Los **enterocitos** son células columnares que forman la mayor parte del epitelio prismático simple de la mucosa del intestino delgado (en el intestino grueso tienen distinta morfología y características, y se denominan "colonocitos"). Sus funciones principales son: absorción de los nutrientes ingeridos en la dieta, transporte de moléculas hacia la luz intestinal (como la IgA producida por las células plasmáticas) y barrera de defensa contra el paso de organismos patógenos hacia la lámina propia.

Las **células M** representadas en la **figura 7** son enterocitos especializados en el transporte de antígenos desde el lumen intestinal al SI subyacente.

Las **células caliciformes** o **células de Goblet** son células glandulares secretoras de moco. Este moco es secretado a la luz intestinal por exocitosis, revistiendo el epitelio para la protección frente a agentes patógenos que tengan el potencial de atacar la barrera epitelial.

Las **células enteroendocrinas** son células epiteliales glandulares que forman parte del sistema endocrino. Su función principal es actuar como sensores del contenido del lumen intestinal, secretando varios tipos de proteínas y péptidos que controlan funciones fisiológicas como la digestión (gastrina, péptido intestinal vasoactivo, serotonina…). También tienen un papel importante en el control del peristaltismo y la protección de la mucosa.

Las **células de Paneth** son células especializadas en la defensa y protección del TGI, situadas en la parte basal de las criptas intestinales. Son especialmente relevantes debido a la producción de AMPs, proteínas con acción antimicrobiana debido al ataque enzimático de las paredes celulares o de la membrana bacteriana interna.

Los AMPs también son producidos por otros tipos de IECs como consecuencia del estrecho contacto con la densa y diversa comunidad microbiana. Bajo esta denominación se incluyen: defensinas, lectinas tipo C, catelicidinas, ribonucleasas o proteínas S100 (Sommer & Bäckhed, 2013). Un pequeño grupo que incluye a la lipocalina 1 actúa a través del bloqueo de la captación bacteriana de metales pesados esenciales para su crecimiento, como el hierro. Algunos son producidos de manera constitutiva, como las α-defensinas, mientras que otros son inducidos por la unión de productos de los comensales a los PRRs, como ANG4 y RegIIIγ[11], o por citocinas derivadas de los linfocitos como IL17 e IL22. La acumulación de AMPs en el moco contribuye al mantenimiento de la segregación entre la microbiota y el intestino del huésped, creando una zona física de separación llamada *demilitarized zone* (Belkaid & Hand, 2014). En caso de defecto en la producción de estos AMPs, aumenta la invasión microbiana de la barrera epitelial[12].

[11] Uno de los péptidos antimicrobianos más conocidos es Reg IIIγ, expresado durante la colonización de ratones libres de gérmenes. La producción de esta lectina tiene efecto microbicida directo sobre las bacterias Gram positivas.(Belkaid & Hand, 2014)

[12] Algunos patógenos gastrointestinales han desarrollado mecanismos específicos de resistencia contra AMPs que facilitan la invasión microbiana; por ejemplo, *Listeria monocytogenes* modifica sus peptidoglicanos y consigue evadir el ataque enzimático por las lisozimas secretadas por las IECs (Hooper & Macpherson, 2010).

Sistema inmune

El SI intestinal constituye la parte más extensa y compleja del SI, conocido como GALT (*Gut-Associated Lymphoid Tissue*). Está compuesto por leucocitos, que actúan en la defensa del organismo a través de la respuesta directa frente a los patógenos (inmunidad celular) o a través de los anticuerpos (inmunidad humoral). Hay dos tipos de inmunidad, innata y adaptativa, que tienen efecto sobre las diferentes partes del intestino en relación a los tipos de microorganismos que predominen. Entre sus funciones principales están: mantener a los patobiontes bajo control, restringir el sobrecrecimiento bacteriano y responder en caso de que los microorganismos penetren a través de la barrera intestinal.

El SI mucoso está integrado por:

- Sitios inductores de respuesta: folículos linfoides aislados de la lámina propia, placas de Peyer y ganglios linfáticos mesentéricos. En estos sitios se produce el reconocimiento antigénico por parte de los LT y LB, y su posterior activación y diferenciación funcional.

  Los **folículos linfoides aislados de la lámina propia** (como los que se representan en la **figura 7**) son grupos linfoides dispersos a lo largo de la lámina propia intestinal. Las **placas de Peyer** son grupos de nódulos linfoides presentes en el intestino delgado formados por folículos de LB y áreas de LT interfoliculares. Desde éstas, las células plasmáticas migran a los sitios efectores (Hooper & Macpherson, 2010). Los tejidos linfoides mencionados inducen la diferenciación del epitelio intestinal normal que los recubre a FAE (*Follicle-Associated Epithelium*), especializado en la captación y el transporte de antígenos. (Abreu, 2010)

  Los **ganglios linfáticos mesentéricos** se localizan en el mesenterio intestinal y se dividen estructuralmente en tres partes: corteza formada por folículos ricos en LB y DCs, paracorteza con elevada proporción de LT y DCs, y médula integrada por LT, LB y células plasmáticas.

- Sitios efectores: lugares a los que migran las células diferenciadas para ejecutar su actividad funcional. Son el **epitelio intestinal** (representado en la **figura 6**) y la **lámina propia**, una capa de tejido mucoso situado bajo la superficie epitelial del TGI en la que residen las células inmunes efectoras de la mucosa. (Abreu, 2010)

  Elementos de los sitios inductores:

- **Células M**: enterocitos especializados en la captación de antígenos.

- **DCs**: localizadas de forma ubicua bajo el epitelio intestinal, tanto en sitios inductores como efectores. Son capaces de actuar de forma directa al reconocer PAMPs (Patrones Moleculares Asociados a Patógenos) de los antígenos captados a través de sus PRRs cuando estos atraviesan la barrera epitelial, o a través de la emisión de pseudópodos entre las IECs cuando están en el lumen intestinal (como se puede ver en la **figura 8**). De forma indirecta pueden hacerlo a través de las células M y las células caliciformes situadas en las placas de Peyer. Expresan receptors TLR Y NLR (*Toll-like Receptor; Nuclear Oligomerization Domain-like Receptor*).

  Una vez activadas, estas células actúan sobre los LT y los estimulan de dos formas: directa, a través de los MHC II cargados de antígenos que se unen a sus receptores e inducen señales coestimuladoras; o indirecta, a través de la liberación de distintas citocinas como IL6, IL12, IL23 o TGFβ (*Transforming Growth Factor β*), que promueven la diferenciación de linfocitos Th1, Th17 y Treg. La actuación sobre los LB ocurre a través de la expresión de ligandos de la familia del TNF (Factor de Necrosis Tumoral) o por la acción combinada de ácido retinoico (metabolito activo de la vitamina A)[13] producido por las DCs de forma constitutiva, con IL6 e IL5.

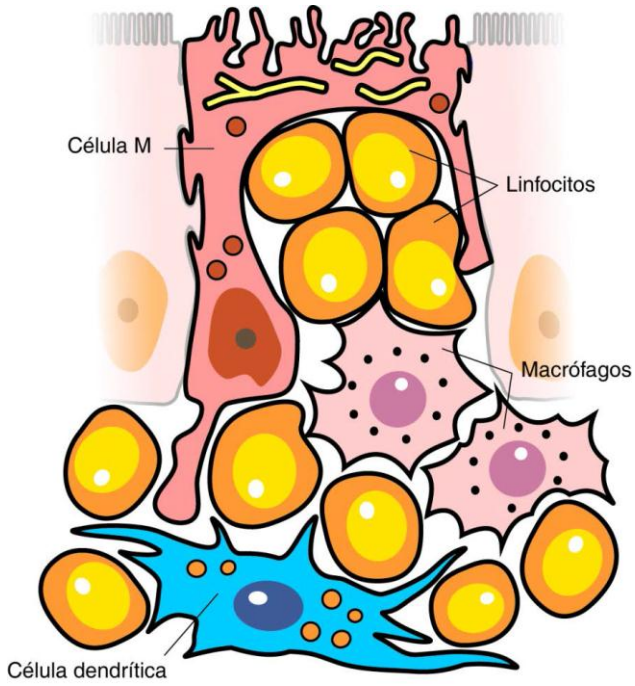

Figura 7. Célula M y su microentorno celular, rico en linfocitos, macrófagos y DCs. A través de la membrana apical, las células M captan antígenos luminales, que internalizan por mecanismos de endocitosis o fagocitosis y transportan hacia la membrana basolateral. Ahí presentan unas invaginaciones intraepiteliales que albergan LT, LB y células presentadoras de antígenos (APCs) (macrófagos y DCs). A pesar de su actividad en el transporte de antígenos, las células M no expresan moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (MHC II), por lo que deben ser consideradas como APCs.

Las DCs no tienen una potente actividad microbicida ya que, después de captar microorganismos comensales, las bacterias vivas no son eliminadas al momento sino que persisten y pueden ser transportadas a los ganglios linfáticos mesentéricos. Debido a su vida útil corta, las DCs cargadas de bacterias no alcanzan las estructuras linfoides centrales. Este mecanismo limita la inducción de la inmunidad de la mucosa por microorganismos comensales (Belkaid & Naik, 2013), con los ganglios linfáticos

[13] Ratones con deficiencia de vitamina A carecen de células secretoras de IgA en el intestino delgado (Veldhoen & Brucklacher-Waldert, 2012).

mesentéricos actuando como un tipo de barrera inmune. El GM-CSF (Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Monocitos) producio por las células Th17 controla tanto la cantidad como la función de las DCs intestinales[14].

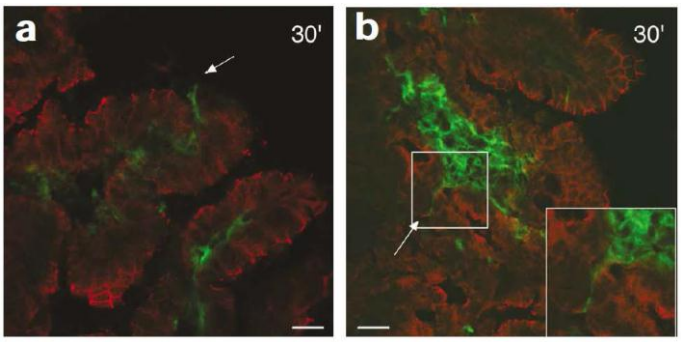

Figura 8. Células dendríticas. En esta imagen de inmunofluorescencia se ve la emisión de pseudópodos por las células dendríticas a través del epitelio intestinal.

Elementos de los sitios efectores:

- **Linfocitos intraepiteliales (IELs)**: son poblaciones de linfocitos dispersas en el entramado epitelial. Comprende los LT- TCRγδ, las NK (*Natural Killer*) y otros tipos celulares. Poseen una diversidad limitada frente a los antígenos, y participan en la defensa innata y la vigilancia tumoral. Regulan la síntesis de IgA, reparan tejidos dañados, previenen la autoinmunidad y desempeñan un papel crucial en la prevención de la sensibilización a antígenos luminales (son mediadores en el proceso de la tolerancia oral).

- **Macrófagos**: residen en la lámina propia y se encargan de fagocitar y eliminar a los comensales que atraviesan la barrera de IECs a través de mecanismos que incluyen AMPs y ROS (Especies Reactivas de Oxígeno), o transportarlos vivos hacia las DCs. Pueden expresar receptores TLR y producen niveles homeostáticos de mediadores proinflamatorios como pro-IL1β que se convierte a la forma activa IL1β en caso de infección intestinal, promoviendo el reclutamiento de los neutrófilos y la activación de LB que llevan a la destrucción del patógeno (Kamada et al., 2013). IL1β promueve también la producción de GM-CSF por las ILC3s, el cual actúa sobre los macrófagos para producir ácido retinoico e induce la diferenciación de Treg promoviendo la tolerancia oral (McKenzie, Spits, & Eberl, 2014). Además de su función fagocítica, los macrófagos intestinales ayudan a reestablecer la integridad física del epitelio intestinal tras lesión[15].

- **PMN** (polimorfonucleares): leucocitos encargados de la protección del organismo mediante diversos mecanismos como la fagocitosis o la liberación de

[14] Específicamente, las DCs y los macrófagos aislados de ratones con falta de GM-CSF mostraron una expresión afectada de retinaldehído deshidrogenasa, el enzima que genera el ácido retinoico. Como consecuencia, estas DCs fallan en la activación de células T reguladoras en cultivos ex vivo, un defecto que podría ser restaurado adicionando GM-CSF. (Aychek & Jung, 2014)

[15] Modelos de ratones con daño de las células del epitelio intestinal muestran que las bacterias que penetran a través de las áreas dañadas desencadenan la expresión de vías de reparación específicas a través de los macrófagos, induciendo su migración al área dañada para producir factores de crecimiento que interaccionan con el epitelio y desencadenan una gran proliferación de enterocitos que permite reemplazar el epitelio dañado con nuevas células. (Hooper & Macpherson, 2010)

enzimas. Así mismo, son inducidos por GM-CSF producido por las ILC3s (*Innate Lymphoid Cells 3*) para activar a los LB (lo que se conoce como activación T-independiente, de la que hablaremos posteriormente).

- **ILCs**: son poblaciones de células innatas derivadas de un progenitor linfoide común que no expresan receptores específicos de antígenos (ver esquema en la **figura 9**); tienen la capacidad de producir grandes cantidades de mediadores inmunes (Veldhoen & Brucklacher-Waldert, 2012). Necesitan señalización Notch para su desarrollo (Diefenbach, Colonna, & Koyasu, 2014). Sus funciones son proteger a las IECs de la exposición a bacterias[16] y otros agentes patógenos (en la **tabla 1** se mencionan los más conocidos), reparar tejidos dañados, promover funciones de barrera (por ejemplo, a través de la formación de folículos linfoides aislados), prevenir la inflamación sistémica y regular la homeostasis metabólica (McKenzie et al., 2014) (Koyasu & Moro, 2012). Participan en la transición entre la inmunidad innata y la adaptativa, y contribuyen a la inflamación crónica.

  Entre los tipos de ILC *helper-like* conocidos:

  ILC tipo 1: se relacionan con la protección innata frente a parásitos intracelulares como *Toxoplasma gondii* gracias a su capacidad para responder a IL12 produciendo IFNγ (Interferón γ).

  ILCs tipo 2: están presentes en los ganglios linfáticos mesentéricos, lámina propia intestinal, pulmones, hígado, médula ósea y piel. Se relacionan con la patofisiología de alérgenos de las vías aéreas, y con respuestas frente a helmintos y nematodos a través de la producción de citocinas IL5, IL9 e IL13[17]. Producen anfirregulinas y promueven la recuperación de la integridad de la barrera epitelial después del daño tisular, y responden a citocinas liberadas por las células[18]. La expresión temprana de las citocinas efectoras por las ILC2s induce eosinofilia, producción de moco por las células caliciformes, activación de macrófagos, contractilidad muscular, mastocitosis, y contribuye a la reparación de tejidos. (Diefenbach et al., 2014).

  ILC tipo 3: incluyen LTi y células que expresan marcadores de células NK como NKp44 (Diefenbach et al., 2014). Están presentes en las amígdalas y en la lámina propia del intestino y es vital para la organogénesis linfoide[19]. Se encargan de mantener la barrera epitelial intestinal a través de la detección de metabolitos producidos y secretados por microorganismos u otros factores ambientales

[16] Disminución en el número de ILC2s e ILC3s lleva a defectos en la inmunidad frente a infecciones por *C. rodentium* o alergias inducidas a papaína. (Diefenbach et al., 2014)

[17] Grandes cantidades de IL13 e IL4 se asocian con el desarrollo de asma. (McKenzie et al., 2014)

[18] Un modelo en ratones con inflamación tipo dermatitis atópica inducida por calcipotriol ha demostrado el rol de ILC2s, independiente de los LT, para iniciar la inflamación en la piel, y la relación con IL25, IL33 y TSLP (thymic stromal lymphopoietin) en la inducción de la respuesta de ILC2 en la piel. (McKenzie et al., 2014)

[19] La disminución en el número de ILC3 lleva a la formación de órganos linfoides más pequeños, lo cual conlleva un aumento en la susceptibilidad a infecciones virales. Resultados similares se ven en la deficiencia de vitamina A que provoca disminución en el número de ILC3 productoras de IL22. El déficit de vitamina A en ratones adultos conlleva una disminución de la inmunidad frente a infecciones por *C. rodentium.* (Diefenbach et al., 2014)

mediante el receptor AHR (Receptor Hidrocarbono Aryl)[20], lo que induce la secreción de las citocinas IL17A e IL22[21]. Ambas son importantes reguladoras de la expresión de factores microbicidas en la protección del epitelio después del daño o infección por patógenos[22].

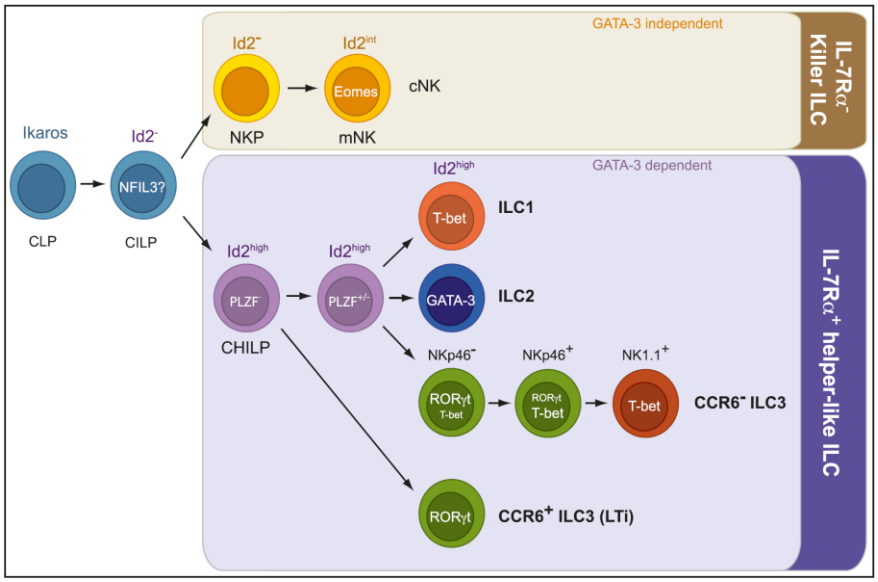

Figura 9. Desarrollo de los linajes de ILC y factores de transcripción asociados (Diefenbach et al., 2014)**.** Existen 2 linajes básicos de ILC, las citotóxicas representadas por las células cNK y las ILC *helper-like* productoras de citocinas, dependientes de factores de transcripción diferentes. Se podría decir que las segundas son el equivalente innato de los LT *helper* $CD4^+$ de la inmunidad adaptativa, mientras que las cNKs son el equivalente de los LT $CD8^+$ citotóxicos[23] (Fuchs et al, 2013; Klose et al, 2014).

ILC/agente patógeno	ILC1	ILC2	ILC3
Bacterias	X		X
Parásitos intracelulares	X		
Hongos			X
Gusanos		X	
Enfermedades autoinmunes	X		X
Alergias		X	
Obesidad		X	

Tabla 1. Protección mediada por las ILCs. En esta tabla se exponen la relación entre los tipos de ILCs y la protección inmune frente a diferentes agentes patógenos/ enfermedades.

[20] El receptor AHR también es expresado por células Th17, Treg e IELs (intraepithelial lymphocytes).(Veldhoen & Brucklacher-Waldert, 2012)

[21] IL22 es inducida para proteger frente al daño intestinal, pero su producción descontrolada está relacionada con la génesis de tumores como el cáncer de colon. (McKenzie et al., 2014)

[22] En condiciones de deficiencia de ácido retinoico (metabolito activo de la vitamina A) se produce una disminución en el número y la función de ILC3s, mientras que ILC2s aumentan de forma compensatoria provocando un aumento en la inmunidad frente a infección por nematodos. (Diefenbach et al., 2014)

[23] Numerosos estudios han llegado a la conclusión de que las funciones y perfiles de citocinas de ILCs y células T adaptativas son muy similares, y por tanto las ILCs podrían tener una función importante en eventos de colonización microbiana en la vida temprana, antes de la completa maduración de la inmunidad adaptativa.(Belkaid & Hand, 2014)

- **LB**: leucocitos especializados en la producción de anticuerpos. En el TGI es fundamental la diferenciación a células plasmáticas productoras de IgA.

  Esta **IgA** es una clase de anticuerpo predominante en las secreciones seromucosas del organismo. En plasma se encuentra en forma monomérica, pero en las mucosas está en forma dimérica (IgA secretora) en continuo cambio para responder a los cambiantes ambientes microbianos del intestino. Limita la asociación bacteriana con la superficie del epitelio intestinal restringiendo la penetración de bacterias comensales[24].

  Hay 2 tipos:

  - IgA T-independiente: se une a los glicanos en la superficie microbiana causando su aglutinación bacteriana. El mecanismo que subyace a la producción de esta IgA ha sido esclarecido recientemente: el GM-CSF producido por las ILC3 induce la expansión y activación de los PMN, que a su vez promueve la activación de los LB.

  - IgA T-dependiente: principal respuesta de la inmunidad adaptativa para controlar la microbiota. Las DCs recogen muestras bacterianas de la mucosa e interaccionan con los LT CD4 en las placas de Peyer y los ganglios linfáticos mesentéricos. De estos lugares saldrán las células plasmáticas IgA^+ en dirección a la lámina propia intestinal para secretar la IgA, como se muestra en la **figura 10**. (Belkaid & Hand, 2014)

- **LT**: se encargan de controlar respuestas protectoras y promover la tolerancia frente a antígenos inocuos. Los LT CD4 inducen respuestas microbiota-IgA específicas. La población de Treg proviene del timo fundamentalmente, y una pequeña parte de células precursoras en la periferia (Treg inducidas) que se acumulan en las superficies mucosas del intestino a lo largo de la vida. Su función fundamental es prevenir respuestas celulares inmunomediadas excesivas, inhibiendo eventos proinflamatorios que podrían dar lugar a inflamación autoinmune y crónica. En la **figura 11** se muestra el proceso de diferenciación de los LT $CD4^+$ a los diferentes subtipos. La diferenciación de Treg y Th17[25] depende de la actividad de TGFβ (Veldhoen & Brucklacher-Waldert, 2012).

[24] No está claro como microbiota-IgA media la protección epitelial, pero varias funciones han sido descritas. La acción de las IgA puede incluir la captura de organismos en el moco, prevención de la invasión de las células epiteliales y alteración de las bacterias unidas, incluyendo anulación de la resistencia bacteriana a la respuesta de ruptura oxidativa. La importancia de IgA en mantener el sistema inmune sistémico ignorante de la microbiota es evidente por el hecho de que ratones deficientes en IgA exhiben un revestimiento de respuesta IgG frente a organismos que deberían formar parte de la microbiota. Además, IgA también tiene un rol en dar forma a la composición de la microbiota; ratones sin genes para el cambio de clase IgA tienen una expansión de *Firmicutes*, notablemente bacterias filamentosas segmentadas asociadas a epitelio, y ratones Rag2-/- tienen una microbiota alterada, que puede ser restaurada después de reconstitución de la médula ósea. Así mismo, ratones con deficiencia en genes de hipermutación somática tienen una expansión de microbiota en el intestino delgado y defensa mucosa dañada. (Brown et al., 2013)

[25] El fallo para mantener el linaje Th17 en el intestino, como se observa en la infección por HIV (Human Immunodeficiency Virus) o SIV (Simian Immunodeficiency Virus), se asocia a translocación microbiana que contribuye a la diseminación del virus (Belkaid & Hand, 2014).

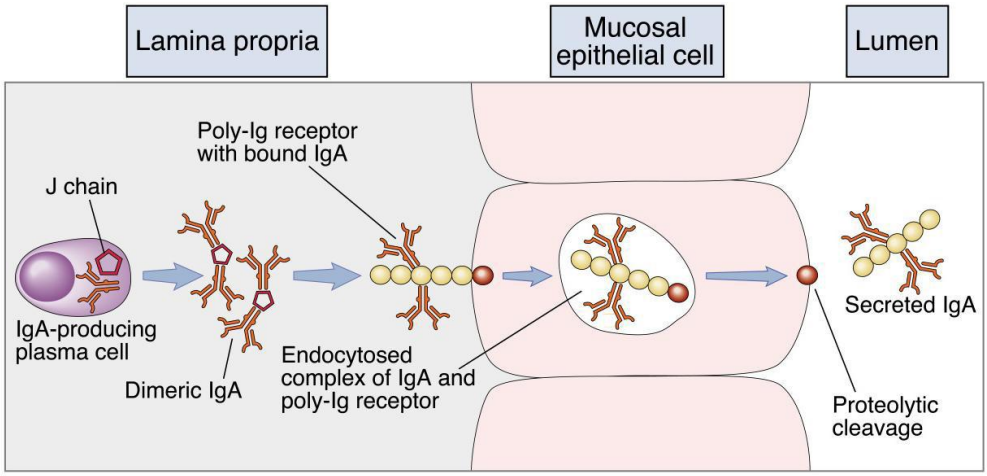

Figura 10. Liberación de IgA secretora por las células plasmáticas. Las células plasmáticas se dirigen hacia la lámina propia para secretar IgA. La IgA se une al receptor Ig polimérico en la superficie basolateral de las IECs, desde donde es transportada mediante transcitosis. Así llega al lumen, donde se une a los antígenos microbianos y previene la translocación bacteriana y la infección.

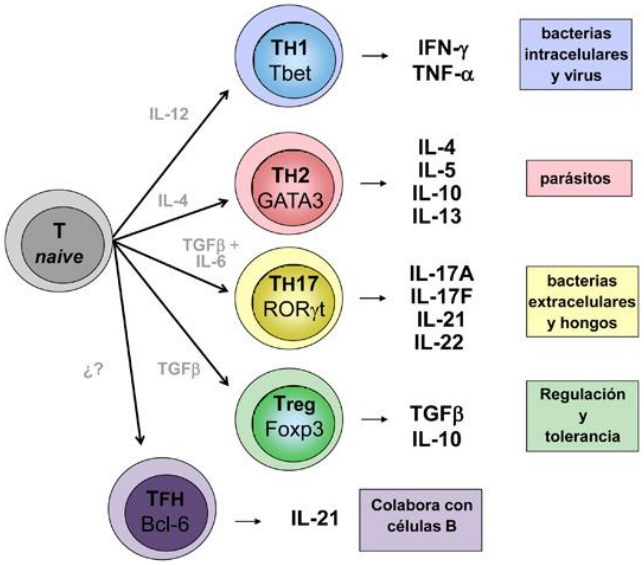

Figura 11. Diferenciación de las células T *helper* CD4⁺ hacia los distintos tipos de células T (Korn, Bettelli, Oukka, & Kuchroo, 2009)**.** Las células de la respuesta inmune innata secretan al medio distintas citocinas (en gris) junto con señales coestimuladoras, lo que induce unos factores de transcripción específicos de cada linaje Th. Cada subtipo de células Th se caracteriza por la secreción de unas citocinas efectoras (en negro) que inducen un tipo de respuesta efectora. Aunque el sistema de diferenciación es muy complejo y redundante, en esta figura se muestra lo más representativo.

RESPUESTA INMUNE DE LAS MUCOSAS

Situación fisiológica (representada en la **figura 12**)

El SI intestinal desarrolla su actividad de forma continua, ya que está expuesto a una gran cantidad y variedad de antígenos de forma constante. Es capaz de distinguir y

neutralizar agentes nocivos y reconocer antígenos inocuos, generando un estado de no respuesta llamado "tolerancia oral". En condiciones fisiológicas[26], la microbiota intestinal establece interacciones directas con las IECs a través de la liberación de activadores solubles, la unión a receptores como los PRRs, o el reconocimiento por parte de células del SI como las DCs[27]. De forma indirecta, las bacterias interaccionan gracias a la liberación de metabolitos u otros factores solubles producidos por ella. Ejemplos de estos mediadores son los SCFAs (*Short-chain fatty acids*), productos del metabolismo de la fibra por las bacterias intestinales[28], o el polisacárido A (PSA), el más abundante polisacárido iónico dipolar de *B. fragilis* que tiene potente efecto antiinflamatorio[29].

Figura 12. Inflamación fisiológica en el intestino. Nuestro organismo debe tolerar a la microbiota normal, para lo que diversos mecanismos funcionan de forma continua manteniendo una inflamación de bajo grado.

A través de estas interacciones se estimulan ambos brazos de la respuesta inmune:

- Brazo efector: con la actuación de los macrófagos, PMN, ILCs, Th17, Th1, LB que producen los mediadores IgA e IL22.

[26] Tras numerosos estudios del suero de sujetos sanos, se ha visto que en condiciones normales contiene anticuerpos y LT específicas frente a las bacterias comensales. Esto sugiere que es común un cierto grado de reconocimiento de comensales que produce un pequeño estado inflamatorio no asociado a patogénesis. (Belkaid & Hand, 2014)

[27] Pequeñas cantidades de bacterias comensales están continuamente penetrando la barrera celular del epitelio intestinal, pero normalmente no llegan a activar una respuesta inmune adaptativa sistémica gracias a la fagocitosis y la actividad microbicida efectiva por parte de las células fagocíticas. (Hooper & Macpherson, 2010)

[28] Ratones libres de gérmenes cuentan con niveles muy bajos de SCFAs, y muestran respuestas inflamatorias exacerbadas o respuestas pobremente resolutivas. (Maslowski & Mackay, 2011)

[29] La colonización de ratones libres de gérmenes por *B. fragilis* o el tratamiento con PSA purificado protege a los ratones frente a la inducción de EII experimental. (Maslowski & Mackay, 2011)

- Brazo regulador: DCs productoras de ácido retinoico que estimula a los LB o la actividad de TGFβ que induce Treg, entre otros procesos.

Del equilibrio entre ambos brazos resulta un estado de inflamación de bajo grado fisiológica asociada a la producción regulada de citocinas tipo IL22, que estimulan la producción de AMPs y moco, así como la reparación del epitelio intestinal. Estos AMPs, las IgAs secretadas al lumen intestinal o la barrera de moco condicionarán la composición de la microbiota y su accesibilidad al epitelio intestinal.

Situación patológica (representada en la **figura 13**)

El aumento de la exposición a antígenos por alteración de la permeabilidad del epitelio intestinal en situación patológica (infección por gérmenes con elevada capacidad infectiva, presencia de toxinas, alteración de la integridad del epitelio que permite interacción con los PRRs situados en las regiones laterales de los enterocitos) dispara al SI y se produce una inflamación aberrante del tubo digestivo (enteritis).

Cuando la activación del brazo efector de la respuesta inmune excede en mucho a la del brazo regulador, hay un fallo en el control del sistema inmune local. Esto lleva a un defecto en la supresión de la función del GALT, que produce la activación de células inflamatorias. Este infiltrado inflamatorio origina lesión de la mucosa, dando lugar a una absorción adicional de antígenos y factores inflamatorios, y a reacciones autoinmunes que cronifican el proceso. Además, estas células inmunes generadas en el tubo digestivo pueden migrar a los órganos linfoides periféricos (OLP) y provocar patologías inflamatorias a distancia (enfermedades autoinmunes como esclerosis múltiple (EM), artritis reumatoide (AR) o inflamación asociada a SM).

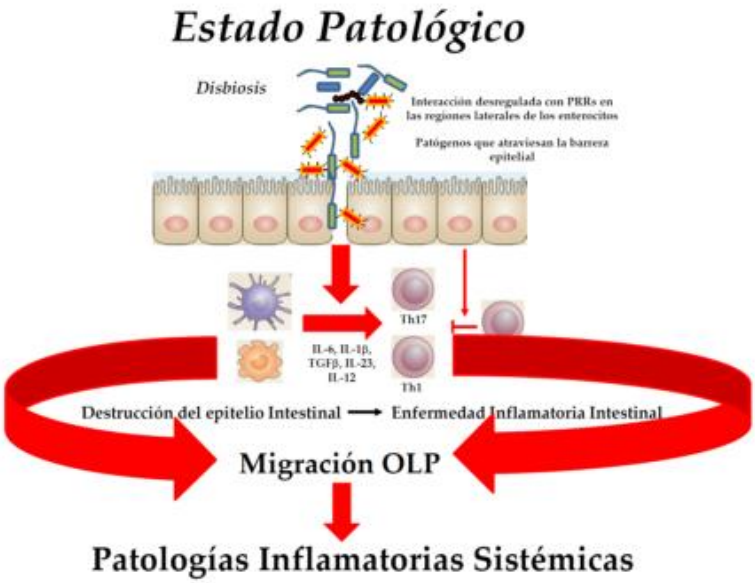

Figura 13. Estado patológico. Cuando la superficie intestinal es atacada por agentes patógenos, se activan mecanismos potentes de inflamación para eliminar el peligro. La inducción de la inmunidad debería quedar restringida al tejido mucoso, pero a veces los efectos pueden extenderse a toda la mucosa intestinal y a otras superficies mucosas dando lugar a la patología sistémica.

PATOLOGÍA INFLAMATORIA SISTÉMICA. RELACIÓN ENTRE LA MICROBIOTA Y EL SÍNDROME METABÓLICO

El SM se define como un grupo de condiciones que ocurren juntas y aumentan el riesgo de desarrollo de infarto, enfermedad cardiovascular y diabetes: aumento de la presión arterial, aumento de los niveles de glucosa en sangre, aumento de la grasa abdominal y nivel elevado de colesterol. En la **figura 14** se presentan de forma esquemática estas alteraciones junto a sus principales consecuencias. Basándose en esto, los médicos han diagnosticado y tratado a un perfil de pacientes determinado: obeso y sedentario con cierto grado de resistencia a la insulina, intentando revertir las diferentes alteraciones que forman parte del proceso. Así, la mayoría de los tratamientos incluyen fármacos hipoglucemiantes o antihipertensivos. Pero ¿qué pasaría si se consiguiesen revertir estas alteraciones modificando las bacterias que habitan en nuestro tracto gastrointestinal? Parece algo utópico, pero la realidad es que una corriente de investigación está demostrando que esta posibilidad no es algo tan disparatado como parece. Parten de la premisa de que son los cambios en la microbiota los que producen un estado proinflamatorio en el paciente, del que se derivan el resto de complicaciones. Si esto se demuestra, marcará un antes y un después en la historia de esta enfermedad; se modifican los papeles de causa y efecto en este cuadro de alteraciones metabólicas y cambia el enfoque terapéutico. A pesar de lo planteado, todavía queda mucho por investigar y probar. Mientras tanto, en este trabajo se presenta el SM desde este novedoso punto de vista, con la microbiota como protagonista.

Visión actual del SM

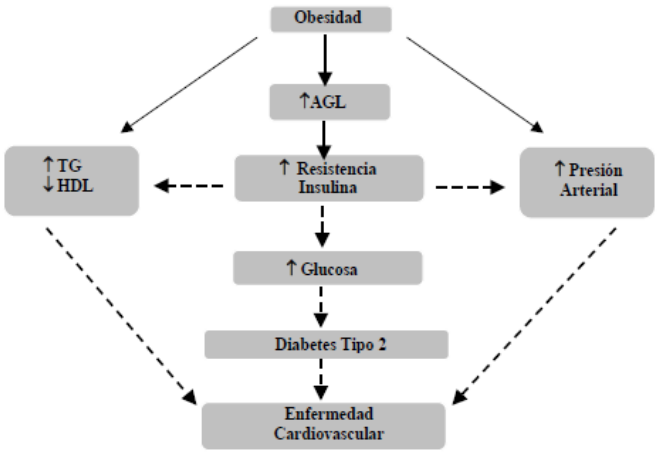

Figura 14. El SM y sus complicaciones. El SM es una enfermedad multifactorial en la que la obesidad y/o la carga genética del individuo predisponen a una serie de alteraciones en el organismo que dan lugar al desarrollo de problemas cardiovasculares y resistencia a la insulina. Según las directrices actuales del Instituto Nacional de Salud, un paciente tiene SM si cuenta con 3 o más de estas características (*Mayo Foundation for Medical Education and Research*, 2014):

1. Circunferencia de cintura grande: 89 cm para mujeres y 102 cm para hombres.
2. Nivel elevado de triglicéridos: superior a 150 mg/dL, o si el paciente recibe tratamiento para disminuir su nivel.
3. Colesterol HDL reducido: menos de 40 mg/dL en hombres o menos de 50 mg/dL en mujeres, o si el paciente recibe tratamiento para ello.
4. Hipertensión arterial: presión arterial superior a 130/85 mmHg, o si el paciente recibe tratamiento antihipertensivo.

5. Glucemia en ayunas elevada: nivel de azúcar en sangre superior a 110 mg/dL, o si el paciente recibe tratamiento para disminuir la glucemia.

Por tanto, el tratamiento actual se basa en el uso de medidas higiénico-dietéticas[30], medicación antihipertensiva, hipocolesterolemiantes o hipoglucemiantes, entre otras herramientas.

Epidemiología y problema socioeconómico

Vivimos en un mundo paradójico en el que una parte de la población mundial muere por desnutrición y sus problemas asociados, mientras la obesidad se ha ganado el título de "epidemia del siglo XXI" (**figura 15**). Representa un problema de salud en la mayor parte de la geografía mundial, y es considerada un factor de riesgo mayor para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes, cuya importancia se refleja en la **tabla 2**.

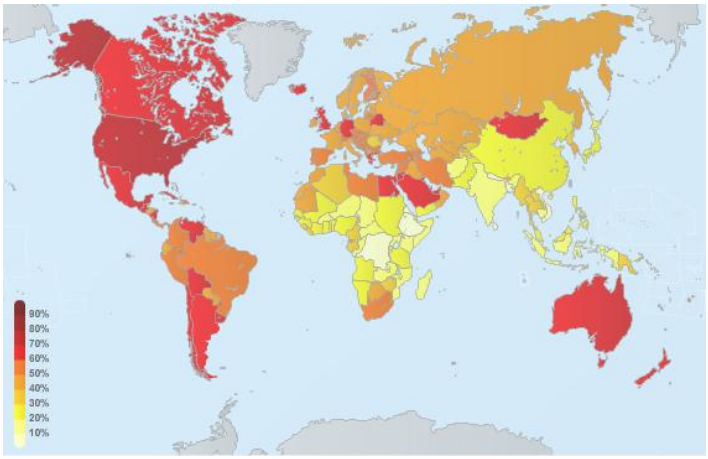

Figura 15. Mapa de prevalencia de sobrepeso* en el mundo (2013). Mientras en el 2005 había 1.6 mil millones de adultos con sobrepeso (49% de la población mundial), en el año 2015 se sobrepasan los 2.3 mil millones. Por países, encabezan la lista de obesidad mundial los EEUU, Micronesia, Argentina o Méjico. En Europa, Grecia o el Reino Unido cuentan con porcentajes también muy elevados. En España se estima que un 51% de la población tiene sobrepeso, y las cifras continúan en aumento. *Se considera población con sobrepeso aquella que presenta un IMC (Índice de Masa Corporal) superior a 25.

	España		Europa	
	EGIR SM	OMS RI	EGIR SM	OMS RI
V <40años	12.7	19.6	10.0	14.0
V 40-55años	15.7	20.7	10.0	20.0
V >55años	17.5	26.3	22.0	31.0
Total V	15.6	22.1	16.0	23.0
M <40años	5.8	7.9	3.0	4.0
M 40-55años	14.1	13.9	7.0	10.0
M >55años	23.9	28.8	16.0	20.0
Total M	15.4	17.1	9.7	12.0
TOTAL	15.5	19.3	13.0	17.0

Tabla 2. Prevalencia del síndrome metabólico y de resistencia a la insulina según criterios OMS (Organización Mundial de la Salud) y EGIR (Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina) en población no diabética europea y española (%). Esta tabla refleja la elevada prevalencia del SM y la RI (Resistencia a Insulina) en la población española y europea. Mientras que en Europa se aprecia una marcada diferencia en la afectación entre hombres y mujeres, en España los porcentajes son muy parecidos. *V: varones, M: mujeres.

[30] Se recomiendan medidas higiénico-dietéticas porque se ha demostrado que ayudan a evitar el desarrollo de problemas metabólicos en personas genéticamente predispuestas, o evitar que la enfermedad establecida se agrave. Se incluyen el ejercicio físico (se recomiendan al menos 30 minutos de ejercicio moderado-intenso al día), pérdida de peso (ayuda a disminuir la resistencia a la insulina y la presión arterial), dieta saludable (disminuir el consumo de grasas y aumentar el de frutas, verduras, pescado y cereales integrales), y abandono de hábitos tabáquicos y el consumo diario de alcohol.

Debido a su gran prevalencia y la invalidez que produce, la obesidad representa un grave problema socioeconómico. No es posible hacer un cálculo exacto del gasto sanitario y personal en dietas, fármacos o cirugías frente a la obesidad. Y no solo se debe hablar de pérdidas materiales sino de vidas humanas, ya que cada 5 segundos una persona muere por alguna patología asociada a la obesidad, y la mitad son menores de 60 años.

Obesidad e inflamación

En la obesidad, la saturación de los adipocitos desencadena un estado de desregulación celular: disfunción mitocondrial, estrés oxidativo y estrés del retículo endoplásmico, como se muestra en la **figura 16**. El tejido adiposo genera una respuesta paracrina a través de la liberación de una gran cantidad de citocinas como TNFα[31]o IL6, y RFA (Reactantes de Fase Aguda) como PCR (Proteína C Reactiva)[32] o fibrinógeno. Así son atraídas otras células de la inmunidad como los macrófagos[33], que detectan el exceso de ácidos grasos saturados a través de los receptores TLR y otras moléculas, e inducen la activación del inflamasoma NLRP3, que constituye el nexo con la inflamación mediada por IL1β. El TNFα, IL6 o el propio aumento del tejido adiposo estimulan a una LSH (lipasa sensible a hormonas) que favorece la lipólisis de los TGs (triglicéridos) almacenados en el tejido, con lo que aumenta la liberación de AGLs (ácidos grasos libres). El depósito progresivo de los AGLs en diferentes órganos produce lipotoxicidad e interfiere en la captación de glucosa, lo que evoluciona a un estado de resistencia a la insulina. Además, la imposibilidad de captar la glucosa hace que el páncreas aumente la producción de insulina en el intento de normalizar la glucemia, sin éxito. La activación de la inmunidad innata se acompaña de la activación linfocitaria. En los sujetos obesos se objetiva mayor cantidad de LT, con inversión del cociente CD4/CD8, lo que implica disminución de la proporción de CD4[34] (Coppieters, 2014).

Todas estas alteraciones que comenzaron en el tejido adiposo se extienden y generan efectos nocivos a lo largo del organismo, entre los que destacan:

- Alteraciones en el metabolismo de los lípidos: los AGLs aumentan la gluconeogénesis hepática y la producción de VLDL en el hígado, con lo que aumentan las LDL (aterogénicas) y disminuyen las HDL. El resultado es la estimulación del proceso aterogénico.
- Aumento del estrés oxidativo y disfunción endotelial: disminuye la biodisponibilidad del NO (óxido nítrico) debido a la inactivación oxidativa del mismo en la pared vascular, lo que contribuye a la formación de trombos, espasmo vascular, inflamación y ruptura de placas de ateroma.

[31] El TNFα produce fallo en la capacidad de fosforilación de residuos de tirosina en el IRS1 (sustrato del receptor de insulina 1), que es necesario para la transmisión de la señal intracelular de la hormona. También disminuye la expresión génica de los transportadores de glucosa GLUT4.

[32] La PCR es una proteína sintetizada en el hígado y en los adipocitos, que circula por el plasma y aumenta su concentración en respuesta a la inflamación.

[33] Los macrófagos se presentan en diferente fenotipo y cantidad en sujetos delgados y obesos. En los delgados representan el 10% del total de células en el tejido adiposo, con un fenotipo inmunoregulador M2 productor de IL10, que promueve la sensibilidad a la insulina en los adipocitos. Sin embargo, en los obesos el fenotipo predominante es M1, responsable de eventos proinflamatorios.

[34] La disminución de la proporción de LT CD4 con respecto a los CD8 está relacionada con el deterioro inmunitario progresivo.

- Aumento de la tensión arterial: debido a todas las alteraciones mencionadas. La disminución del NO, que en condiciones normales actúa como un potente vasodilatador arterial, o la liberación de citocinas como IL6 o TNFα, favorecen este proceso. En el caso de IL6, por estimulación del SNS, aumenta el colágeno en la pared vascular y se induce la síntesis de fibrinógeno; el TNFα estimula la producción de endotelina 1, que aumenta el tono vascular.

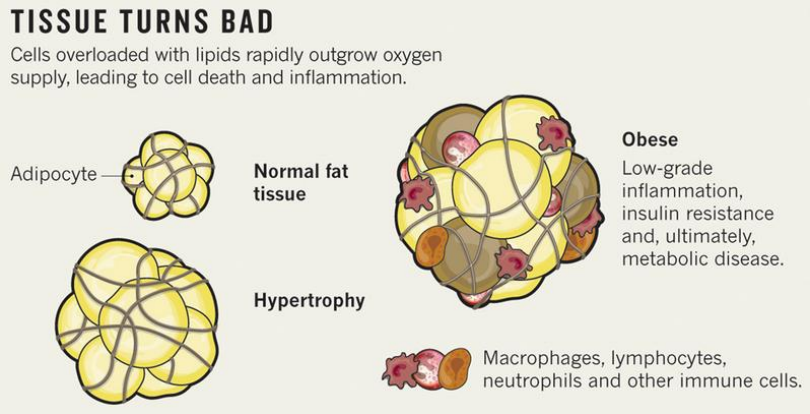

Figura 16. "El tejido se vuelve malo". En los sujetos obesos, la sobrecarga de lípidos provoca una hipertrofia de los adipocitos, que genera estrés celular. También disminuye el aporte de oxígeno tisular y se produce muerte celular. Todas estas alteraciones llevan al tejido a un estado de inflamación crónica de bajo grado, que pasa a ser la nueva situación basal del individuo[35]. (Odegaard & Chawla, 2013)

Obesidad y microbiota

Una vez que hemos hablado de algunas de las alteraciones que se producen en la obesidad, vamos a comentar la relación entre ésta y la microbiota. El estudio que se presenta en la **figura 17** expone cómo la transmisión de los microbios intestinales y el fenotipo obeso están estrechamente relacionados. Por tanto, parece razonable que existan ciertas diferencias en la microbiota intestinal entre los sujetos obesos y delgados. Se ha postulado que la proporción relativa entre los diferentes tipos bacterianos que forman parte de la microbiota intestinal podría ser la principal responsable, y estudios realizados tanto en ratones como en humanos lo confirman. En uno de ellos se analizaron más de 5000 secuencias de 16S rRNA bacterianos correspondientes a la microbiota fecal de ratones obesos (*ob/ob*) y delgados (+/+). Llegaron a la conclusión de que la principal diferencia entre ambos tipos es la composición de la microbiota: las divisiones bacterianas más abundantes en todos los ratones eran los phylum Firmicutes y Bacteroidetes, pero la proporción entre ambos era diferente en los sujetos obesos (con mayor cantidad de Firmicutes), en comparación a los delgados (Ley, 2005). En un estudio con un planteamiento muy parecido al anterior en el que se analizaba la microbiota cecal de los ratones, se vio que la de los obesos contenía mayor proporción de *Archaea* que en los delgados (Turnbaugh, 2006). Dentro de los estudios hechos en humanos, en uno de ellos se compara la microbiota de pacientes obesos, delgados y pacientes que sufren anorexia nerviosa: los resultados revelan que la proporción de *Firmicutes* en el intestino de los tres grupos es similar, pero

[35] Este cambio de la situación basal en los individuos obesos explica el porqué de la resistencia a perder peso en este perfil de pacientes. (Odegaard & Chawla, 2013)

los Bacteroidetes están reducidos en los individuos obesos, y *Methanobrevibacter smithii* está presente en mayor proporción en el intestino del grupo de pacientes con anorexia (Armougom, 2009).

En base a lo comentado, se extrae que las diferencias en la composición de la microbiota deben ser clave en el desarrollo de la obesidad. Por tanto, los diversos factores que la modulan tienen que ser estudiados detenidamente, para conocer las alteraciones y sus cambios fenotípicos correspondientes. Este hecho es fundamental en el desarrollo de tratamientos efectivos.

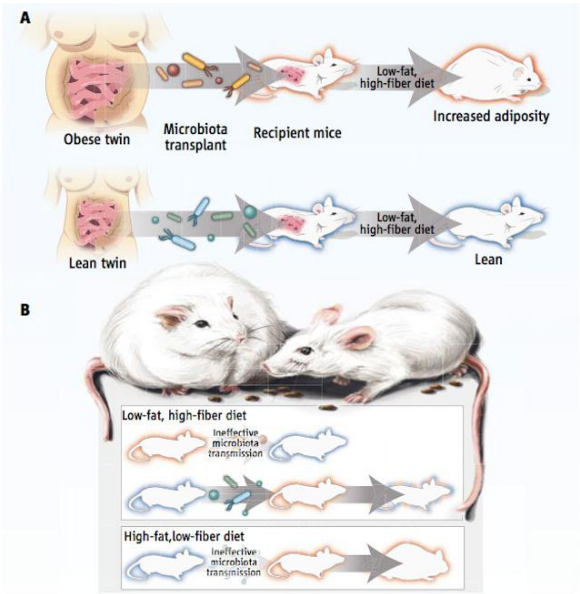

Figura 17. Microbiota en sujetos obesos y delgados. En un estudio hecho con gemelos en donde uno de ellos es obeso y el otro delgado, se extrae la microbiota de ambos y se transfiere a ratones libres de gérmenes (**A**). Ambos son alimentados durante un tiempo determinado con la misma dieta y en las mismas condiciones. El resultado muestra que el animal receptor de la microbiota intestinal del gemelo obeso desarrolla obesidad, mientras que la transferencia de la microbiota intestinal del gemelo delgado hace que el ratón receptor se mantenga delgado y no desarrolle obesidad. Como parte del estudio también se administra a un ratón *Wild-type* una dieta hipercalórica, y éste desarrolla obesidad. El trasplante de la microbiota intestinal de este ratón obeso a otro libre de gérmenes provoca que el segundo desarrolle también obesidad. En la tercera parte (**B**), se crean dos hábitats de convivencia de ratones portadores de una microbiota de tipo obeso con otros portadores de una microbiota de tipo delgado. En el primer hábitat se alimenta a los ratones con una dieta baja en grasa y rica en fibra, y en el otro se administra lo contrario, una dieta rica en grasa y pobre en fibra. En el primer caso, se observa cómo la microbiota de los ratones delgados invade de forma efectiva a los ratones obesos, y éstos pierden peso. Sin embargo, la microbiota obesa no coloniza a los ratones portadores de microbiota delgada, y estos ratones permanecen delgados. En el segundo caso ocurre lo opuesto, la microbiota de los ratones delgados no coloniza de forma efectiva a los ratones obesos, y éstos desarrollan obesidad. (Ridaura *et al*, 2013)

Factores modificadores de la microbiota

"Somos lo que comemos". Dado que existen más de 10.000 funciones en nuestro organismo desempeñadas por los microorganismos que habitan en el intestino, este dicho no difiere tanto de la realidad. El patrón de dieta influye sobre la actividad intestinal y modela la composición de la microbiota. En estudios hechos sobre ratones sometidos a dietas hipocalóricas se ha visto que se produce una modificación de la microbiota con aumento de la proliferación de bacterias como *Lactobacillus*, conocida por sus efectos saludables[36]. En relación al tipo de dieta, una situación en la que se ve clara su influencia sobre la microbiota es en estudios relacionados con la conocida "*Western diet"*. Esta dieta forma parte de los hábitos alimenticios de buena parte de la

[36]*Lactobacillus* es conocido por sus efectos saludables, por ejemplo en la prevención de las diarreas asociadas a diversos agentes patógenos víricos y bacterianos. Así mismo, se usa de forma rutinaria en Pediatría para evitar las diarreas asociadas al uso de ciertos antibióticos que destruyen la microbiota intestinal.

población occidental. Consiste en la alimentación "*too much, too fatty, too salty*": grandes cantidades de grasas y colesterol, proteínas, azúcares y sal, con escasos vegetales y fibra. Los resultados de estudios en sujetos que siguen esta dieta en comparación a lo alimentados con una dieta baja en grasas muestran que las comunidades bacterianas de los que basan su alimentación en una "*Western diet*" cuentan con una menor proporción de Bacteroidetes y Bacillus, con aumento en la proporción de las subpoblaciones Clostridiales, Actinobacteria y Deltaproteobacteria (Firmicutes)[37] (Turnbaugh, 2008).

En un análisis metagenómico hecho sobre población humana, Louis *et al* han demostrado que la microbiota fecal tiene una distribución bimodal en la población general: una con menor diversidad microbiana, conocida como LGC (*low gene count*), y otra con mayor diversidad, HGC (*high gene count*) (Louis, Hold, & Flint, 2014). Las poblaciones con LGC tienen una mayor proporción de Bacteroides spp. y menor de Firmicutes (productores de butirato), lo que se corresponde a una incidencia aumentada de obesidad. El cambio controlado de la dieta de estos individuos para bajar de peso mostró modificaciones como aumento de la diversidad de la microbiota, alcanzando la de los individuos con HGC. Esto demuestra cómo la dieta tiene impacto sobre la composición de la microbiota. En otro estudio hecho por un consorcio internacional de investigación en el seno del proyecto MetaHIT (Metagenómica del Tracto Intestinal Humano), basándose en las diferencias en la dieta que existen en diferentes países y culturas en el mundo, compararon la microbiota intestinal de la población en más de 30 países (incluyendo Francia, España, Japón o EEUU). En base a los resultados consiguieron dividir las diferentes variantes en 3 "enterotipos"[38] básicos, en función de la proporción de Bacteroides, Prevotella y Ruminococcus:

- Enterotipo 1: enriquecido en Bacteroides. Su fuente de energía principal es la extracción a través de la fermentación de carbohidratos y proteínas. Asociada a una dieta con abundantes proteínas y grasa. Este tipo de hábitos alimenticios es característico de EEUU y del norte de Europa.

- Enterotipo 2: con predominio de Prevotella y Desulfovibrio, que actúan juntas en la rotura de las glicoproteínas de mucina. Se asocia a una dieta rica en hidratos de carbono.

- Enterotipo 3: el más común, con mayor proporción de Ruminococcus, con capacidad de degradar mucinas.

Esta clasificación es independiente de sexo, edad, nacionalidad de origen, estado de salud o IMC (índice de masa corporal)[39]. La base del agrupamiento se relaciona con los diferentes patrones dietéticos de larga evolución en europeos, americanos y japoneses. Se ha visto que los habitantes de uno de estos países, cuando se trasladan a vivir a otro

[37] Estos resultados concuerdan con los del estudio del que hablamos en el apartado anterior acerca de las diferencias en la microbiota entre sujetos delgados y obesos.

[38] "Enterotipo" es la agrupación de la microbiota de una persona. (Tremaroli & Bäckhed, 2012)

[39] IMC o Índice de Masa Corporal es una medida de asociación entre la masa y la talla de un individuo. Se usa para la clasificación del estado nutricional de un individuo, y se calcula como IMC= masa (kg)/ estatura^2 (cm). Sin embargo, es necesario usarla de forma cautelosa ya que no tiene en cuenta muchas variables propias de cada individuo como la diferencia entre masa muscular y masa grasa.

por un tiempo prolongado, incorporando los hábitos dietéticos del país de destino, desarrollan cambios en la microbiota propia que la hacen parecerse más a la de los habitantes de nuevo lugar de residencia. Otro estudio que se basó en el análisis de muestras de heces en la población sana de la región amazónica de Venezuela, áreas rurales de Malawi y EEUU encontró la misma agrupación por enterotipos en las poblaciones de áreas subdesarrolladas, la cual es completamente diferente a la que se encuentra en los EEUU. (Arumugam, 2011)

A continuación, en la **tabla 3** se presentan otros ejemplos de las posibles modificaciones que los hábitos dietéticos provocan sobre las poblaciones microbianas que habitan el tracto gastrointestinal.

Dieta	Poblaciones aumentadas	Poblaciones disminuidas
Restricción grasa	Bacteroidetes	Firmicutes
Restricción de carbohidratos	Bacteroidetes	Firmicutes
Baja en carbohidratos/alto contenido proteico	*Oscillibacter valerigens*	*Roseburia, E. rectale, Bifidobacterium*
Restricción calórica y ejercicio	*Bacteroides fragilis,* Lactobacillus y Bacteroidetes	*C. coccoides, B. longum, B. adolescentes, C. histoyticum y E. rectale-C. coccoides*
Almidón resistente	*Ruminococcus bromii, Oscillibacter valerigens, Roseburia y E. rectale*	
Alto contenido en fibra dietética	Bifidobacterium, Ruminococcus, Lactobacillus-Enterococcus*, Faecalibacterium prausnitzii y E. rectale-C. coccoides*	

Tabla 3. Influencias de la dieta en la microbiota intestinal. La tabla presenta los cambios en la proporción de diferentes microorganismos en función de la dieta que siga un individuo. Dietas ricas en grasa y proteínas están asociadas con baja biodiversidad, mientras que aquellas con alto aporte de fibra cuentan con una mayor diversidad bacteriana. En cuanto a las diferencias en la proporción de microorganismos con las variaciones de la dieta, éstas se centran en los géneros Firmicutes y Bacteroidetes.

Además de los tipos de alimentos, también es importante tener en cuenta que la cantidad o el tiempo entre comidas pueden influir produciendo cambios en la microbiota. Backhead y su grupo de investigadores probaron en ratones el efecto de la sobrealimentación sobre el Fiaf (*Fasting-induced adipocyte factor*), antagonista de la actividad de la LPL (lipoproteína lipasa), un enzima encargado de hidrolizar triglicéridos y liberar los ácidos grasos para el transporte a los adipocitos. La Fiaf antagoniza la actividad de la LPL y previene el almacenamiento de los triglicéridos como grasa. Este grupo fue capaz de desarrollar un modelo animal en el que la microbiota intestinal suprime la expresión de Fiaf como respuesta a la sobrealimentación, aumentando la actividad de LPL y el depósito de grasa en los adipocitos. (Bäckhed et al., 2004)(Shen, Obin, & Zhao, 2013)(Bäckhed, Manchester, Semenkovich, & Gordon, 2007)

Por tanto, podemos considerar a la dieta como el principal modificador de la microbiota, pero también es necesario tener en cuenta otros factores que influyen de forma directa sobre ella, como el tipo de parto (cesárea o parto natural), los estímulos patógenos

durante el desarrollo del SI o el uso de antibióticos[40] provocan modificaciones importantes en la microbiota. Según la teoría de la higiene[41], la esterilización excesiva del ambiente lleva a la disminución de los estímulos infecciosos necesarios para el desarrollo completo y correcto del SI. Dada la elevada complejidad de la microbiota y de la inmunidad en general, en la actualidad probablemente tengamos conocimiento de una mínima parte de este "universo". Debido a esto, se hace necesario proponer muchos más estudios, obtener más datos, en poblaciones más amplias y variadas, para dilucidar ante qué nos encontramos exactamente. Sin embargo, con todo lo que se ha descubierto hasta ahora, podemos decir que los hábitos mantenidos a lo largo del tiempo, como la nutrición y el estilo de vida, son los responsables de las mayores modificaciones sobre la microbiota.

Microbiota, metabolismo e inflamación

Existe una estrecha interacción entre las propias células del huésped y los microorganismos que se encuentran en la superficie intestinal, encargados de metabolizar sustancias ingeridas en la dieta y de liberar mediadores que interaccionan con el huésped. Las bacterias anaerobias son las principales encargadas de actuar sobre los componentes de la dieta que no pueden ser digeridos por otros mecanismos del propio organismo a través de la fermentación, la respiración anaerobia u otros procesos. Con esto se libera una gran variedad de moléculas en función del sustrato y de la diversidad bacteriana del huésped, algunas con efecto proinflamatorio y otras antiinflamatorias. El metabolismo de sustratos como la colina, el colesterol y los polisacáridos genera componentes bioactivos con repercusión sobre el sistema. Por ejemplo el huevo, la carne roja o los productos lácteos contienen colina, que es digerida por las bacterias intestinales liberando el metabolito TMAO (Trimetilamina N-óxido), que puede dar lugar al desarrollo de problemas cardiovasculares[42]. El colesterol a través de la activación del receptor TGR5 incrementa el consumo energético y la secreción de GLP1 (Péptido similar al glucagón 1) para regular hormonas y modular la inflamación. Los polisacáridos son los productos más importantes de la fermentación bacteriana en los adultos sanos, y se transforman en SCFAs (*short chain fatty acids*). Provienen de la ingestión de fibra o almidón, y fermentan en el colon liberando acetato, propionato y butirato. Estas moléculas producen cambios en el organismo como el aumento del tránsito intestinal y de la eliminación de heces, así como la disminución del pH en el lumen. Los tres tipos de SCFAs son absorbidos desde la luz y tienen diferentes efectos sobre el metabolismo. El butirato se usa como fuente de energía por las células del epitelio, con lo que la concentración en la sangre es baja; el propionato se metaboliza en el hígado, y el acetato alcanza las mayores concentraciones en la sangre periférica.

[40] La gran actividad bactericida de algunos antibióticos elimina no solo las bacterias patógenas, sino los comensales necesarios para el correcto mantenimiento de la homeostasis intestinal.

[41] La teoría de la higiene se basa en observaciones como la menor proporción de alergias y asma en los niños que viven en granjas en relación a los que viven en la ciudad. Sin embargo, los detractores de esta teoría afirman que la higiene excesiva es solamente un factor de confusión, ya que los niños que viven en granjas tiene una dieta diferente a los del entorno urbano. Por tanto, parece que las enfermedades inflamatorias se correlacionan más con la teoría del cambio en la dieta que con la de la higiene excesiva. (Maslowski & Mackay, 2011)

[42] De hecho, TMAO puede ser usado como marcador de riesgo de sufrir eventos cardíacos o accidentes cerebrovasculares.

La importancia de estos radica en su capacidad para inhibir algunas posibles secuencias que dan lugar a eventos proinflamatorios en el intestino, lo que se explica con mayor detalle en la **figura 18**.

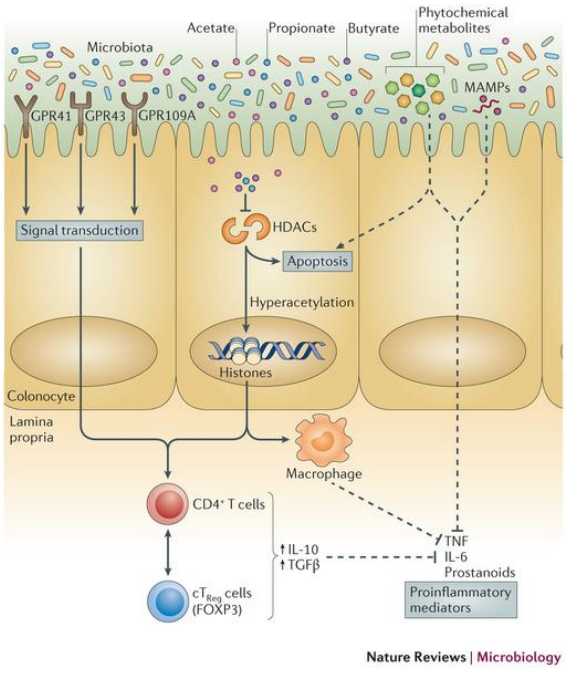

Figura 18. Efecto de productos derivados de la fermentación microbiana sobre la inflamación. Los SCFAs acetato, propionato y butirato actúan sobre las células del colon, los macrófagos y los LT. Actúan al ser reconocidos por receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) en la superficie de las células del colon y de células inmunes; el propionato y el butirato también tienen una acción inhibidora de unas enzimas deacetilasas intracelulares implicadas en la transducción de señales para la activación de la respuesta inflamatoria. Así, la hiperacetilación de las histonas y la señalización vía GPCRs dan lugar al aumento en el número de Treg (que expresan el factor de transcripción FOXP3, encargado del control de la inflamación intestinal) y la producción de citocinas antiinflamatorias como IL10 o TGFβ. Otras moléculas con posible efecto antiinflamatorio son algunos fitoquímicos producidos tras transformación microbiana, que actúan inhibiendo mediadores proinflamatorios como TNF, IL6 o prostanoides. Algunos MAMPs derivados de bacterias comensales también contribuyen a la señalización antiinflamatoria. (Louis et al., 2014)

En el 2012, Lin *et al* evaluaron los efectos de la administración de SCFAs (*short chain fatty acids*) en ratones con la premisa de que estos regulan a las hormonas intestinales vía FFAR2 (*Free Fatty Acid Receptor 2*) y FFAR3, protegiendo frente a la obesidad inducida por la dieta y el desarrollo de resistencia a la insulina. Los investigadores encontraron evidencias de que los SCFAs, en concreto butirato y propionato, inducen hormonas intestinales y reducen el consumo de alimentos. Así, la estimulación de las hormonas intestinales y la contención de la ingesta alimentaria vía butirato y propionato son algunos de los mecanismos a través de los que la microbiota regula el metabolismo del huésped.

Hasta ahora se han visto las respuestas derivadas de productos del metabolismo bacteriano, pero los microorganismos que componen la microbiota también son capaces de liberar mediadores de forma independiente. Por ejemplo, algunas bacterias intestinales pueden producir efectos sobre el huésped a través de componentes de su estructura como LPS y peptidoglicanos. El LPA tiene, en condiciones normales, un efecto antiinflamatorio (presentado en condiciones fisiológicas en la **figura 12**); es un factor simbiótico liberado por *B. fragilis* que se encarga de la señalización a través de TLR2 directamente sobre Treg FOXP3$^+$ para promover la tolerancia inmunológica[43]. Sin

[43] *B.fragilis* que carecen de PSA no son capaces de restringir las respuestas mediadas por Th17 y son incapaces de colonizar correctamente la mucosa.

embargo, otros LPS pueden repercutir de forma negativa sobre el metabolismo del huésped, por ejemplo produciendo un aumento de la resistencia a la insulina (Tremaroli & Bäckhed, 2012).

La microbiota también juega un papel fundamental en la regulación de la absorción de nutrientes, como demostraron en el 2011 Jumpertz *et al*. Lo hicieron a través de la pirosecuenciación de genes rRNA bacterianos en las heces de 12 ratones delgados y 9 obesos; también midieron las calorías invertidas y las compararon con las calorías en las heces usando una bomba de calorimetría. El resultado fue que en función del tipo de nutrientes consumidos se inducen cambios en la microbiota. Estos cambios se correlacionan de forma directa con la proporción de energía extraída de los alimentos que se elimina en las heces y la que se almacena, pudiendo haber una diferencia de hasta 150 kcal.

Inflamación y SM

¿Existen las microbiotas proinflamatorias? Como ya se ha explicado, la microbiota intestinal es una fuente importante de estímulos pro y antiinflamatorios gracias a su actividad metabólica. Aunque todavía queda mucho por estudiar, ya sabemos que ciertas microbiotas tienen menor riesgo de desarrollo de inflamación, como aquellas con mayor variedad de especies y escaso número de patógenos. Además, como hemos comentado, la presencia de algunos metabolitos es beneficiosa, como los SCFAs que suprimen el crecimiento de bacterias Gram negativas, actúan como agentes antiinflamatorios y promueven la apoptosis de células cancerosas. Siguiendo el mismo razonamiento, en caso de disbiosis la disminución de la diversidad microbiana y el aumento de especies patógenas proinflamatorias puede llevar a un estado inflamatorio crónico y al desarrollo de trastornos como el síndrome metabólico.

En 2007, Cani *et al* demostraron que una dieta rica en grasas puede producir aumento en la liberación de LPS (lipopolisacáridos)[44] al plasma, provocando una endotoxemia metabólica. Los LPS liberados a la luz del intestino activan señales a través de mecanismos mediados por TLR4[45], y dan lugar a alteraciones relacionadas con la inflamación y el desarrollo de SM: aumento de la glucemia en ayunas, insulinemia en ayunas, aumento del contenido hepático de TGs y aumento de peso. En marzo de 2015, Chassaing *et al* evaluaron el impacto de dos aditivos de uso común en la industria alimentaria sobre la microbiota intestinal de los ratones. El polisorbato-80 ha sido aprobado por la FDA (*Food and Drug Administration*) para su uso hasta el 1%; la carboximetilcelulosa no ha sido muy estudiada y está clasificada como "considerada generalmente segura" (GRAS), con lo que se permite su uso en varios alimentos hasta el 2%. Los resultados del estudio en ratones han demostrado que el uso de estos aditivos en bajas concentraciones induce un estado de inflamación intestinal de bajo grado y obesidad. Se ha visto que ambos alteran la composición microbiana en intestino y heces: disminuyen los niveles de Bacteroidetes (asociados a un estado saludable) y aumentan los niveles de bacterias relacionadas con la inflamación crónica como Ruminococcus. Así

[44] Los LPS son endotoxinas derivados de bacterias Gram (-) que habitan en nuestro tracto gastrointestinal, y se ha visto que contribuyen al desarrollo de obesidad y al aumento de la intolerancia a la glucosa en estos pacientes.
[45] El estudio de Fukuda et al demuestra que la activación de las vías de TLR4 debido a cambios de la microbiota intestinal provocan inflamación gastrointestinal en pacientes obesos (Fukuda & Ohno, 2014).

mismo, se observó el desarrollo de colitis en ratones con predisposición a la enfermedad (Swidsinski, Loening-Baucke, & Herber, 2009). Entre sus conclusiones establecieron que el uso de estos aditivos altera múltiples parámetros relacionados con el SM, y produce hiperfagia, aumento de la adiposidad y alteración de la glucemia.

En resumen, el impacto de la microbiota intestinal en la obesidad y el SM se basa en que en pacientes obesos, tanto la composición de la microbiota como la capacidad metabólica están alteradas (**figura 19**). Esto provoca una alteración en los procesos metabólicos normales en los órganos periféricos, como el control de la saciedad por el cerebro, la liberación de hormonas intestinales (PYY y GLP-1), o la síntesis, almacenamiento o metabolismo de los lípidos en el tejido adiposo, el hígado y el músculo. Así mismo, algunas sustancias liberadas por la microbiota aumentan la permeabilidad intestinal, llevando a una inflamación sistémica y al aumento de la resistencia a la insulina. (Tremaroli & Bäckhed, 2012)

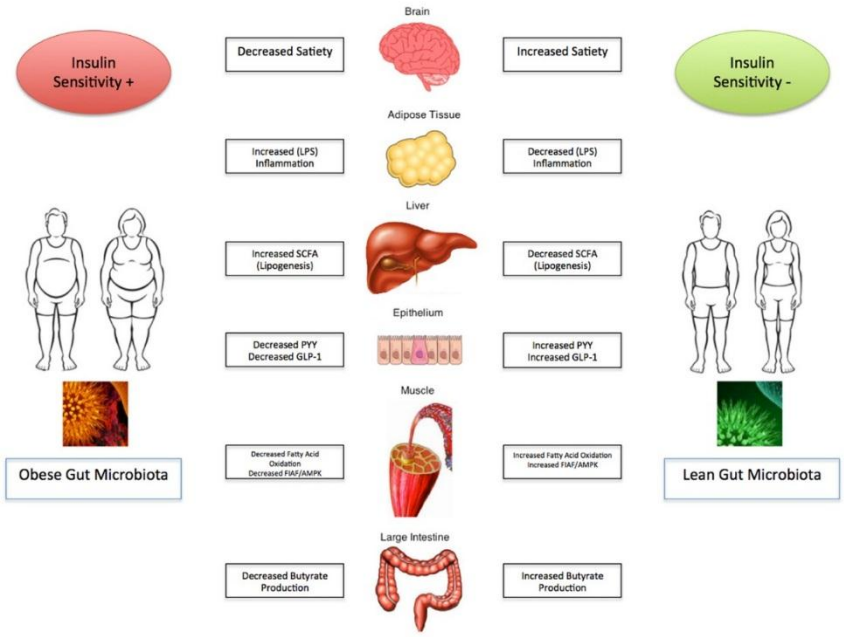

Figura 19. Obesidad y SM (Parekh, Arusi, Vinik, & Johnson, 2014). La alteración de la microbiota en los sujetos obesos da lugar a un conjunto de alteraciones en diferentes órganos que van a dar lugar al desarrollo de resistencia a la insulina y otros problemas asociados. A nivel cerebral, la alteración de la microbiota da lugar a hiperfagia por desregulación en el control de la saciedad. En el tejido adiposo se desarrolla un proceso inflamatorio crónico a través de múltiples mecanismos como la liberación de LPS por las bacterias de la microbiota. A nivel del intestino grueso disminuye la producción de butirato, SCFA con efecto antiinflamatorio. Estos son algunos de las repercusiones que, en conjunto, forman en SM.

En función de todo lo expuesto se puede concluir que, a pesar del gran número de estudios y teorías acerca del posible factor etiológico y mecanismos implicados en el desarrollo del SM, ninguno es concluyente. Nos encontramos ante un tema difícil, en el que no todo tiene que ser "blanco o negro", sino que subyacen profundas y complejas interacciones entre genes[46], ambiente y circunstancias vitales que van a influenciar el desarrollo de obesidad, inflamación y otras alteraciones que dan lugar al SM (**figura 20**).

[46] ¿Cómo se explica que ciertos grupos étnicos tengan mayor tendencia al desarrollo de obesidad y SM? Detrás de esto puede existir un genotipo "ahorrador". Los estudios hablan de ciertas poblaciones acostumbradas a un medio

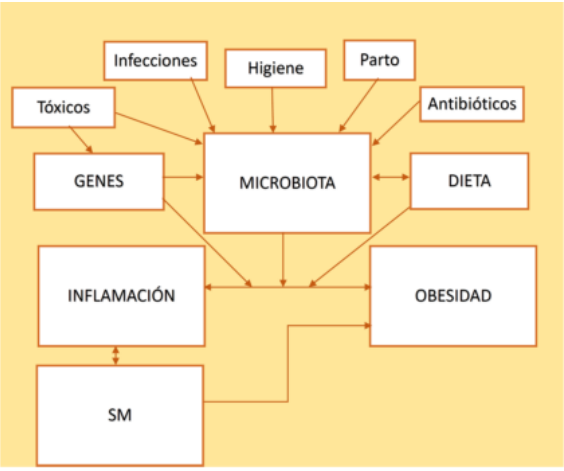

Figura 20. Desarrollo del SM. En este esquema se representan los principales factores que precipitan el desarrollo del SM. Los cambios en la microbiota a lo largo de la vida están influenciados por el consumo de tóxicos, las infecciones en la infancia o el uso de antibióticos. Esto va a provocar alteraciones bacterianas capaces de influenciar el desarrollo de obesidad y la activación del sistema inmune. Ambos procesos repercuten entre sí, generando un proceso crónico de inflamación que provoca daño progresivo en diferentes órganos del huésped mostrados en la **figura 19**, y que en última instancia da lugar al SM.

Posibilidades de tratamiento y prevención del SM

En base a los estudios realizados hasta ahora, se han hecho múltiples propuestas de tratamientos que podrían ser útiles pero todavía necesitan ser testados en estudios a largo plazo, con poblaciones grandes y multiétnicas, con la finalidad de eliminar los posibles factores de confusión (Donath, 2014). Aunque todavía no se haya llegado a la conclusión de cuál es la causa exacta del SM, existe ya un gran conocimiento de los mecanismos que dan lugar a las alteraciones que se observan en los pacientes. Por tanto, lo que se presenta es un nuevo concepto de terapias, que no se dirigen hacia un agente causal específico sino hacia la modificación de las vías cuya alteración está provocando la patología. Entre las múltiples propuestas de tratamiento tenemos:

1. **Agentes metabólicos**: PUFAs (*polyunsatured fatty acid*), agonistas PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptor*) o inhibidores DPP4 (*dipeptidyl peptidase 4*). Se ha visto que el aumento en el consumo de PUFAs en la dieta y la disminución del consumo de ácidos grasos saturados permite mejorar los niveles de triglicéridos en plasma, modulando así el desarrollo de las alteraciones en el SM. La activación PPARγ por los agonistas PPAR produce aumento de la sensibilidad a la insulina, lo que puede permitir su uso como tratamiento de la DM y los problemas vasculares asociados, o como profilaxis en poblaciones con alto riesgo. La sitagliptina, un fármaco que inhibe el enzima DPP4 se usa como hipoglucemiante en el tratamiento de la DM tipo 2[47]. (Odegaard & Chawla, 2013)

con escaso o inestable aporte alimentario; esto ha hecho que desarrollen la capacidad de almacenamiento de energía como un medio de supervivencia. Cuando estas personas se exponen a un ambiente diferente al suyo, desarrollan obesidad, resistencia a la insulina y DM. Por tanto, estos genotipos han pasado de ser un rasgo evolutivo a ser un problema. En otros estudios de familias y poblaciones también se ha demostrado agregación genética en el desarrollo del SM. Se han identificado polimorfismos en ciertos genes relacionados con la respuesta inmune como CD14, TLR2 o TLR4, y de receptores intracelulares como NOD1 y NOD2, que contribuyen al desarrollo del SM. Otros genes candidatos son los receptores β adrenérgicos (β2 y β3), el PPARγ, el UCP1 (gen de la proteína desacoplante de la termogénesis) y la PC1 (gen de la glicoproteína plasmática). (Okada, Kuhn, Feillet, & Bach, 2010)

[47] El uso de la sitagliptina necesita ser revisado debido a evidencias de efecto proaterogénico en ratones.

2. **Salicilatos**: basándose en la inflamación de bajo grado como causa del desarrollo de la resistencia a la insulina, el tratamiento con antiinflamatorios podría ser una opción razonable. Aunque todavía en fases precoces de estudio, se ha propuesto el salsalato[48] como un tratamiento en pacientes con DM2. (Odegaard & Chawla, 2013)

3. **Fármacos inmunomoduladores**: su objetivo es reparar los mecanismos malfuncionantes que alteran el metabolismo (Donath, 2014). Muchos de estos fármacos se están utilizando ya en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, como los inhibidores de citocinas (canakinumab, infliximab, entanercept), los bloqueadores de la coestimulación o los agentes antiLT (por ejemplo, anticuerpos dirigidos a CD3) (Odegaard & Chawla, 2013). Sin embargo, estos fármacos no son de fácil manejo, y es necesario sopesar la cuestión del perfil riesgo/beneficio para saber si es razonable el uso de estas terapias biológicas en el SM (Coppieters & Von Herrath, 2014).

4. **Prebióticos:** se ha visto que el uso de polisacáridos no digeribles en cantidades suficientes permite la estimulación del crecimiento y la actividad de algunas bacterias dentro del tracto intestinal, promoviendo efectos saludables. Un ejemplo es la inulina, uno de los prebióticos más reconocidos junto a los *trans*-galacto-oligosacáridos, que estimulan el crecimiento de *Bifidobacterium* (efecto bifidogénico) (Tremaroli & Bäckhed, 2012). También se ha visto que mejoran la tolerancia a la glucosa, disminuyen la adiposidad y la inflamación de bajo grado. (Parekh, Arusi, Vinik, & Johnson, 2014)

5. **Trasplante fecal**[49]: consiste en la transferencia de heces de un donante sano para promover la recuperación de la microbiota propia que se encuentra alterada. Aunque necesitar ser estudiado más a fondo, el trasplante de microbiota intestinal podría ser desarrollado como arma terapéutica para aumentar la sensibilidad a la insulina en pacientes que tienen resistencia y o que han desarrollado síndrome metabólico (Parekh et al., 2014). A pesar de ser una técnica prometedora[50], la transmisión de bacterias desconocidas potencialmente patogénicas y virus de la microbiota intestinal pueden suponer un riesgo para el receptor. (Tremaroli & Bäckhed, 2012)

6. **Activación de la grasa parda**: el tejido adiposo marrón puede actuar como "quemador de grasa", por lo que algunos lo han visto como una de las promesas para erradicar la epidemia de obesidad. Podría conseguirse mediante trasplante, activación farmacológica o modificación genética. Sin embargo, todo esto son

[48] Un grupo de científicos de la universidad de Harvard han publicado en *Annals of Internal Medicine* un prometedor estudio con posibles evidencias de la efectividad del uso del salsalato como tratamiento en la DM tipo 2, que también produce mejora del riesgo coronario.

[49] Esta técnica se usó por primera vez en China en el siglo IV, donde usaban heces de bebés para sanar varias dolencias. Los beduínos recomendaban consumir heces frescas de camello para frenar la disentería bacteriana. Recientemente se ha visto su alta eficacia como tratamiento para erradicar la infección por *Clostridium difficile*.

[50] Un estudio publicado en el *The New England Journal Of Medicine* demostró que el trasplante fecal como tratamiento para curar la colitis pseudomembranosa (la causa es la infección por *C. difficile*) es más efectiva que el uso de antibioterapia con vancomicina.

especulaciones y todavía no se han conseguido resultados concretos. (Odegaard & Chawla, 2013)

7. **Terapia con helmintos:** se basa en la idea de que la infección con parásitos intestinales podría ejercer un efecto inmunomodulador en el huésped. Ya hay estudios en fase II para pacientes con SM[51] (WIRMS *study*, 2014).

En cuanto a la profilaxis de las alteraciones que llevan al desarrollo de SM, se ha hablado mucho del uso de los **probióticos**. Estos son microorganismos vivos no patógenos que, administrados por vía oral en cantidades adecuadas, podrían conferir beneficios para la salud del huésped[52] (Maslowski & Mackay, 2011) (Okada et al., 2010). Un ejemplo bien conocido es la recomendación del consumo de yogurt y otros productos lácteos fermentados, que contienen bacterias con supuesto beneficio para el tracto gastrointestinal. Estudios hechos en pacientes con enfermedad de Crohn han visto que su consumo puede tener efectos generales positivos sobre la mucosa del huésped:

- Aumento de la función de barrera epitelial y otras respuestas inmunes innatas;
- Modulación de la función de la microbiota endógena, afectando su relación con el huésped, incluyendo la exclusión competitiva de los patógenos;
- Modulación del comportamiento de las células inmunes y el perfil de citocinas.

Se ha documentado la eficacia clínica de los probióticos para ciertas aplicaciones como la prevención de la diarrea asociada a antibióticos, prevención de enterocolitis necrotizante severa en niños pretérmino, alivio de los síntomas en la EII, y reducción de la incidencia de enfermedades del tracto respiratorio. Sin embargo, el hecho de que sean microorganismos vivos hace que la respuesta en cada paciente sea diferente e impredecible, en función de las interacciones que creen en el interior del organismo. Además, no nos podemos olvidar de que en pacientes inmunodeprimidos o críticos su uso puede suponer el aumento del riesgo de infecciones como la fungemia por *Saccharomyces*, por ejemplo. Por todo lo expuesto, su uso en la actualidad todavía no parte de una base científica sólida. (Van Baarlen, P. & Kleerebezem, M., 2013)

[51] El estudio consiste en la administración de huevos de *Trichuris suis*, cada 3 semanas por 6 meses en 29 pacientes con la EC activa; los primeros resultados mostraron que el 72% de ellos mejoró los síntomas de la enfermedad sin reacciones adversas. En pacientes a los que se les inoculó de forma subcutánea la larva infectiva del helminto *Necator americanus*, se conseguía una ligera mejoría de los síntomas, que volvían a empeorar cuando se reducían los fármacos inmunosupresores. (Okada et al., 2010)

[52] Estudios demuestran que el consumo de *Bifidobacterium* antagoniza el estado proinflamatorio producido por la microbiota intestinal en respuesta a dietas ricas en grasa, que en condiciones normales predispone a la persona al desarrollo de resistencia a la insulina y obesidad. Bacterias comensales beneficiosas como *Bifidobacterium, Lactobacillus, Saccharomyces, Streptococcus* y *Enterococcus* son consideradas probióticos (Parekh et al., 2014) (Tremaroli & Bäckhed, 2012).

CONCLUSIÓN

Extraer conclusiones acerca de este tema es un arduo trabajo, dada la extrema complejidad y el hecho de que probablemente se ignora mucho más de lo que se conoce. Partiendo de la base de que hay inmensos tipos bacterianos, vías y mecanismos que desconocemos, queda abierta una puerta muy interesante al estudio e investigación acerca de la estructura creada sobre la mucosa de nuestro intestino. La obesidad y el SM son muy prevalentes en la actualidad, y su incidencia no para de aumentar, con lo que la presión y el esfuerzo necesario son todavía mayores.

En vista de la plasticidad de la microbiota, creo que en lugar de centrarse en desarrollar nuevos fármacos antiinflamatorios o terapias complejas con anticuerpos, sería más coste-efectivo dirigirse hacia el análisis de la microbiota fecal o la monitorización de la microbiota intestinal, y manipularla de manera que los propios enemigos que la atacan sean capaces de cambiar y protegerla. Mapeando la comunidad bacteriana de un individuo y conociendo la repercusión que esto tiene sobre el desarrollo de patología, los tratamientos precoces podrían evitar la evolución a problemas que van desde la resistencia a la insulina al desarrollo de cáncer de colon. En mi opinión, deberíamos eliminar la connotación negativa que tenemos sobre el término “bacteria” y darle una oportunidad, ya que podría convertirse en nuestro mejor aliado.

Aunque reconozco que en este momento es algo utópico, creo que las mayores oportunidades se pueden encontrar en la “nutrición personalizada” (dietas dirigidas), dado que las terapias orales son las menos invasivas y mejor aceptadas por los pacientes. El desarrollo de probióticos derivados de comunidades humanas en las que el SM u otras alteraciones metabólicas son casi inexistentes parece algo factible. Esto se podría ampliar también para el tratamiento del asma, alergias, o enfermedades autoinmunes cuyos tratamientos actuales se basan en corticoides u otros fármacos con múltiples efectos secundarios. Además, la introducción de estas terapias podría repercutir sobre la disminución del uso actual de los antibióticos, evitando todos sus problemas asociados.

En resumen, ante nosotros se encuentra todo un mundo por descubrir, y la posibilidad de “zanjar el problema del sobrepeso desde el inodoro”, como afirma la bióloga venezolana Vanessa Ridaura.

ABREVIACIONES

AGL: Ácidos Grasos Libres

AHR: Receptor Hidrocarbono Aryl

AMP: Péptido Antimicrobiano

APC: Célula Presentadora de Antígenos

AR: Artritis Reumatoide

CHAOS: *Coronary artery disease, Hypertension, Adult onset diabetes, Obesity and Stroke*

cNK: Célula *Natural Killer* Convencional

Csf: Factor Estimulador de Colonias

CU: Colitis Ulcerosa

DC: Célula Dendrítica

DM: Diabetes Mellitus

DPP-4: Dipeptidil Peptidasa-4

EC: Enfermedad de Crohn

EII: Enfermedad Inflamatoria Intestinal

EM: Esclerosis Múltiple

FDA: *Food and Drug Administration*

FFAR: *Free Fatty Acid Receptors*

Fiaf: *Fasting-induced adipocyte factor*

FMO: *Flavin-containing Monooxygenase*

GALT: *Gut-Associated Lymphoid Tissue*

GM-CSF: Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Monocitos

GRAS: *Generally Regarded as Safe*

HDL: *High-Density Lipoproteins*

HIV: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

IEC: Célula Epitelial Intestinal

IEL: Linfocitos Intraepiteliales

IgA: Inmunoglobulina A

IL: Interleucina

ILC: *Innate Lymphoid Cell*

IMC: Índice de Masa Corporal

IRS: Sustrato del Receptor de Insulina

LB: Linfocito B

LDL: *Low Density Lipoproteins*

LSH: Lipasa Sensible a Hormonas

LT: Linfocito T

LTi: *Lymphoid Tissue Inducer Cell*

LPS: Lipopolisacáridos

MHC: Complejo Mayor de Histocompatibilidad

NFAT5: Factor Nuclear de Células T Activadas 5

NLR: *Nuclear Oligomerization Domain-like Receptor*

NO: Óxido Nítrico

OLP: Órganos Linfoides Periféricos

PAMP: Patrón Molecular asociado a Patógenos

PCR: Proteína C Reactiva

PGE: Prostaglandina E2

PKR: Proteína Quinasa R

PMN: Célula Polimorfonuclear

PPAR: *Peroxisome Proliferator Receptor Activator*

PRR: Receptor de Reconocimiento de Patrón

PSA: Polisacárido A

PUFA: *Polyunsaturated Fatty Acids*

RA: Reacción Adversa

RFA: Reactantes de Fase Aguda

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno

SCFA: S*hort Chain Fatty Acid*

SI: Sistema Inmune

SIV: Virus de la Inmunodeficiencia en Simios

SM: Síndrome Metabólico

SNC: Sistema Nervioso Central

TF: Factor de Tejido

TG: Triglicérido

TGF: *Tumour Growth Factor*

TGI: Tracto Gastrointestinal

TLR: *Toll-like Receptor*

TMA: *Trimethylamine*

TMAO: *Trimethylamine-N-oxide*

TNF: Factor de Necrosis Tumoral

VLDL: V*ery Low Density Lipoproteins*

BIBLIOGRAFÍA

Abreu, M. T. (2010). Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews. Immunology*, *10*(2), 131–44. doi:10.1038/nri2707

Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccah D, Raoult D. Monitoring bacterial community of humans gut microbiota reveals an increase in lactobacillus in obese patients and methanogens in anorexic patients. *PLoS One* 2009; 4 (9): e7125.

Arumugam, M. *et al.* (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 2011. DOI: 10.1038/nature09944.

Atarashi, K., & Honda, K. (2011). Microbiota in autoimmunity and tolerance. *Current Opinion in Immunology*. doi:10.1016/j.coi.2011.11.002

Aychek, T., & Jung, S. (2014). Immunology. The axis of tolerance. *Science (New York, N.Y.)*, *343*(6178), 1439–40. doi:10.1126/science.1252785

Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V, Koh, G. Y., Nagy, A., … Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*, 15718–15723. doi:10.1073/pnas.0407076101

Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*, 979–984. doi:10.1073/pnas.0605374104

Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, *157*(1), 121–41. doi:10.1016/j.cell.2014.03.011

Belkaid, Y., & Naik, S. (2013). Compartmentalized and systemic control of tissue immunity by commensals. *Nature Immunology*, *14*(7), 646–53. doi:10.1038/ni.2604

Brown, E. M., Sadarangani, M., & Finlay, B. B. (2013). The role of the immune system in governing host-microbe interactions in the intestine. *Nature Immunology*, *14*(7), 660–7. doi:10.1038/ni.2611

Butel, M. J. (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Medecine et Maladies Infectieuses*. doi:10.1016/j.medmal.2013.10.002

Cani P.D., Amar J., Iglesias M.A., Poggi M., Knauf C., Bastrelica D., et al. (2007). Metaboli endotoxemia initiates obesidy and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56:1761-72; PMID: 17456850

Cha, H.-R., Chang, S.-Y., Chang, J.-H., Kim, J.-O., Yang, J.-Y., Kim, C.-H., & Kweon, M.-N. (2010). Downregulation of Th17 cells in the small intestine by disruption of gut flora in the absence of retinoic acid. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *184*, 6799–6806. doi:10.4049/jimmunol.0902944

Chassaing, B., Koren, O., Goodrich, J. K., Poole, A. C., Srinivasan, S., Ley, R. E. & Gewirtz, A. T. (2015) Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature Letter*, vol 519. doi:10.1038/nature14232

Chu, H., & Mazmanian, S. K. (2013). Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis. *Nature Immunology*, *14*(7), 668–75. doi:10.1038/ni.2635

Coppieters, K. T., & Von Herrath, M. G. (2014). Metabolic syndrome - Removing roadblocks to therapy: Antigenic immunotherapies. *Molecular Metabolism*. doi:10.1016/j.molmet.2013.12.005

Devkota, S., Wang, Y., Musch, M. W., Leone, V., Fehlner-Peach, H., Nadimpalli, A., … Chang, E. B. (2012). Dietary-fat-induced taurocholic acid promotes pathobiont expansion and colitis in Il10−/− mice. *Nature*. doi:10.1038/nature11225

Diefenbach, A., Colonna, M., & Koyasu, S. (2014). Development, Differentiation, and Diversity of Innate Lymphoid Cells. *Immunity*, *41*(3), 354–365. doi:10.1016/j.immuni.2014.09.005

Donath, M. Y. (2014). Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: time to start. *Nature Reviews. Drug Discovery*, *13*(6), 465–76. doi:10.1038/nrd4275

Feuerer, M., Herrero, L., Cipolletta, D., Naaz, A., Wong, J., Nayer, A., … Mathis, D. (2009). Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters. *Nature Medicine*, *15*, 930–939. doi:10.1038/nm.2002

Fukuda, S., & Ohno, H. (2014). Gut microbiome and metabolic diseases. *Seminars in Immunopathology*. doi:10.1007/s00281-013-0399-z

Hall, J. E. (2010). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. In *Physiology* (p. 1091). doi:10.1093/jhered/est132

Hooper, L. V, & Macpherson, A. J. (2010). Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews. Immunology*, *10*(3), 159–69. doi:10.1038/nri2710

Huffnagle, G. B. Increase in dietary fiber dampens allergic responses in the lung. *Nature medicine, News and Views*. Volume 20, number 2. February 2014

Ivanov, I. I., & Honda, K. (2012). Intestinal commensal microbes as immune modulators. *Cell Host & Microbe*, *12*(4), 496–508. doi:10.1016/j.chom.2012.09.009

Jumpertz, R., Le, D. S., Turnbaugh, P. J., Trinidad, C., Bogardus, C., Gordon, J. I., & Krakoff, J. (2011). Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, *94*, 58–65. doi:10.3945/ajcn.110.010132

Kamada, N., Chen, G. Y., Inohara, N., & Núñez, G. (2013). Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nature Immunology*, *14*(7), 685–90. doi:10.1038/ni.2608

Kamada, N., Seo, S.-U., Chen, G. Y., & Núñez, G. (2013). Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews. Immunology*, *13*(5), 321–35. doi:10.1038/nri3430

Klaenhammer, T. R., Kleerebezem, M., Kopp, M. V., & Rescigno, M. (2012). The impact of probiotics and prebiotics on the immune system. *Nature Reviews Immunology*. doi:10.1038/nri3312

Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., & Kuchroo, V. K. (2009). IL-17 and Th17 Cells. *Annual Review of Immunology*, *27*, 485–517. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132710

Koyasu, S., & Moro, K. (2012). Role of innate lymphocytes in infection and inammation. *Frontiers in Immunology*. doi:10.3389/fimmu.2012.00101

Ley, RE, Backhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone C.A., Knight R.D., Gordon, J.I. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102: 11070-11075

Lin, H. V., Frassetto, A., Kowalik, E. J., Nawrocki, A. R., Lu, M. M., Kosinski, J. R., … Marsh, D. J. (2012). Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *PLoS ONE*, *7*. doi:10.1371/journal.pone.0035240

Louis, P., Hold, G. L., & Flint, H. J. (2014). The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nature Reviews Microbiology*, *812*(2013), 1–7. doi:10.1038/nrmicro3344

Manzel, A., Muller, D. N., Hafler, D. A., Erdman, S. E., Linker, R. A., & Kleinewietfeld, M. (2014). Role of "western diet" in inflammatory autoimmune diseases. *Current Allergy and Asthma Reports*, *14*. doi:10.1007/s11882-013-0404-6

Markle, J. G. M., Frank, D. N., Mortin-Toth, S., Robertson, C. E., Feazel, L. M., Rolle-Kampczyk, U., Von Bergen, M., McCoy, K. D., Macpherson, A. J. & Danska, J. S. (2013) Sex differences in the gut microbiome drive hormone-dependent regulation of autoimmunity. *Science Reports*. doi:10.1126/science.1233521

Maslowski, K. M., & Mackay, C. R. (2011). Diet, gut microbiota and immune responses. *Nature Immunology*, *12*, 5–9. doi:10.1038/ni0111-5

McKenzie, A. N. J., Spits, H., & Eberl, G. (2014). Innate Lymphoid Cells in Inflammation and Immunity. *Immunity*, *41*(3), 366–374. doi:10.1016/j.immuni.2014.09.006

Odegaard, J. I., & Chawla, A. (2013). The immune system as a sensor of the metabolic state. *Immunity*. doi:10.1016/j.immuni.2013.04.001

Okada, H., Kuhn, C., Feillet, H., & Bach, J. F. (2010). The "hygiene hypothesis" for autoimmune and allergic diseases: An update. *Clinical and Experimental Immunology*. doi:10.1111/j.1365-2249.2010.04139.x

Parekh, P. J., Arusi, E., Vinik, A. I., & Johnson, D. A. (2014). The role and influence of gut microbiota in pathogenesis and management of obesity and metabolic syndrome. *Frontiers in Endocrinology*. doi:10.3389/fendo.2014.00047

Ridaura, V.K. *et al. Science* 341, 1241214 (2013); DOI: 10.1126/science.1241214

Roberfroid, M. (2007). Prebiotics: the concept revisited. *The Journal of Nutrition*, *137*, 830S–7S. doi:137/3/830S [pii]

Shen, J., Obin, M. S., & Zhao, L. (2013). The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Molecular Aspects of Medicine*. doi:10.1016/j.mam.2012.11.001

Shulzhenko, N., Morgun, A., Hsiao, W., Battle, M., Yao, M., Gavrilova, O., … Matzinger, P. (2011). Crosstalk between B lymphocytes, microbiota and the intestinal epithelium governs immunity versus metabolism in the gut. *Nature Medicine*. doi:10.1038/nm.2505

Sommer, F., & Bäckhed, F. (2013). The gut microbiota--masters of host development and physiology. *Nature Reviews. Microbiology*, *11*(4), 227–38. doi:10.1038/nrmicro2974

Swidsinski, A., Loening-Baucke, V., & Herber, A. (2009). Mucosal flora in Crohn's disease and ulcerative colitis - An overview. *Journal of Physiology and Pharmacology*, *60*, 61–71.

Tremaroli, V., & Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. doi:10.1038/nature11552

Trompette, A., Gollwitzer, E. S., Yadava, K., Sichelstiel, A. K., Sprenger, N., Ngom-Bru, C., … Marsland, B. J. (2014). Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nature Medicine*, *20*, 159–66. doi:10.1038/nm.3444

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER & Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006. 444, 1027-1031. doi: 10.1038/nature05414

Turnbaugh PJ, Bäckhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe* 2008. 3:213-23; PMID: 18407065

Van Baarlen, P., Wells, J. M., & Kleerebezem, M. (2013). Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. *Trends in Immunology*. doi:10.1016/j.it.2013.01.005

Veldhoen, M., & Brucklacher-Waldert, V. (2012). Dietary influences on intestinal immunity. *Nature Reviews. Immunology*, *12*(10), 696–708. doi:10.1038/nri3299

Walker, A. and Parkhill, J. Fighting Obesity with Bacteria. *Science 341*, 1069 (2013); DOI: 10.1126/science.1243787

Winer, S., Chan, Y., Paltser, G., Truong, D., Tsui, H., Bahrami, J., … Dosch, H. -M. (2009). Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy. *Nature Medicine, 15,* 921-929. doi: 10.1038/nm.2001

Yeretssian, G. (2012). Effector functions of NLRs in the intestine: innate sensing, cell death, and disease. *Immunologic Research*, *54*(1-3), 25–36. doi:10.1007/s12026-012-8317-3