



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



---

Departamento de Biotecnología

# Descifrando las funciones de la microbiota intestinal en la obesidad

Memoria de la tesis presentada por

**Inmaculada López Almela**

Para optar al grado de Doctor en Biotecnología por la Universidad Politécnica de  
Valencia

Directoras: **Prof. Yolanda Sanz Herranz**

**Dra. Marina Romaní Pérez**

## Resumen

En la actualidad, la obesidad es uno de los principales problemas de salud pública debido a su elevada prevalencia y a las comorbilidades asociadas, lo que se traduce en una reducción considerable de la calidad y esperanza de vida, además de un enorme gasto económico.

Se trata de una enfermedad que resulta del desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético, que conduce a un aumento del peso y la grasa corporal. Puesto que la obesidad es de origen multifactorial, incluyendo tanto factores genéticos como ambientales, el desarrollo de terapias efectivas para combatirla resulta complejo y se ha convertido en uno de los principales retos de la sociedad.

Se ha demostrado que la microbiota intestinal, mediante su comunicación con el organismo humano, ejerce un papel relevante en el mantenimiento del balance energético y salud metabólica. Por ello, las estrategias basadas en la modificación de la microbiota intestinal para, de forma beneficiosa, modular el metabolismo energético, son consideradas hoy en día potenciales alternativas para el manejo clínico de la obesidad. No obstante, la aplicación de estas estrategias con eficacia requiere un mayor conocimiento sobre cuáles son las especies bacterianas clave en el mantenimiento de la homeostasis energética del hospedador y su modo de acción.

El objetivo general de la tesis ha sido identificar nuevas estrategias basadas en la manipulación de la composición y funciones de la microbiota intestinal eficaces contra la obesidad, así como sus mecanismos de interacción con el hospedador.

El capítulo primero de la tesis se centra en estudiar los mecanismos de acción por los que *Bacteroides uniformis* CECT 7771 ejerce efectos protectores frente al desarrollo de la obesidad, tal y como nuestro grupo ha descrito en trabajos previos. A través de un estudio de 14 semanas en ratones con obesidad inducida por la dieta hemos demostrado que esta cepa reduce la disfunción metabólica a través de la modulación de la microbiota intestinal y las alteraciones inmunológicas. Los efectos inmunomoduladores más destacados de *B. uniformis* fueron la reducción de los niveles de células B, macrófagos totales y el balance de macrófagos pro y antiinflamatorios (M1/M2), así como un aumento en los niveles de linfocitos T reguladores y la citocina antiinflamatoria IL-10, tanto en intestino como en tejido adiposo epididimal. Además, en el tejido adiposo se incrementaron las citocinas TSLP e IL-33 que están involucradas en la activación de una respuesta antiinflamatoria. Todos estos efectos sobre el eje intestino-tejido adiposo parecen estar mediados por la activación de TLR5 en ambos tejidos.

En línea con el potencial anti-obesidad mostrado por *B. uniformis* CECT 7771, en otro estudio perteneciente al mismo capítulo, hemos desarrollado una estrategia similar a un simbiótico con el fin de incrementar la eficacia de esta bacteria administrándola a dosis menores. La formulación simbiótica se diseñó en base a trabajos previos del grupo demostrando la preferencia de *B. uniformis* CECT 7771 por el salvado de trigo (WBE, enriquecido en oligosacáridos de arabinosilano [AXOS]) como fuente de carbono en cultivos *in vitro*. Para demostrar la eficacia *in vivo* de la administración conjunta de *B. uniformis* CECT 7771 y WBE hemos realizado una intervención en ratones con obesidad inducida por dieta en la que caracterizamos los beneficios inmuno-metabólicos de dicha

combinación, en relación a los efectos individuales de cada componente. Además, con el fin de demostrar la aplicabilidad y ventajas del simbiótico, se estudiaron sus efectos utilizando una dosis inferior de *B. uniformis* CECT 7771 con respecto al primer estudio. Como resultados destacables, mientras que individualmente los componentes del simbiótico ejercieron efectos más modestos contra la obesidad, la combinación fue la intervención más eficaz al reducir el aumento de peso corporal y la adiposidad, al tiempo que mejoraron las rutas del metabolismo energético moduladas por insulina y la homeostasis inmunológica intestinal. En particular, la combinación restauró la reducción de la lipogénesis en el tejido adiposo epididimal y la glucogénesis hepática en obesidad. Además, reforzó la primera línea de defensa inmunológica al aumentar los niveles de butirato y restaurar los niveles de linfocitos intraepiteliales inducidos y las células linfoides innatas de tipo 3. Esta intervención también atenuó la inflamación hepática, causante de resistencia a la insulina en obesidad, a través de una mejora de la señalización de IL-22.

En el segundo capítulo de la tesis hemos llevado a cabo dos estudios preclínicos que describen los efectos de dos nuevas bacterias autóctonas del tracto gastrointestinal humano como potenciales probióticos para el tratamiento de la obesidad identificadas con posterioridad por el grupo.

El primer estudio, muestra los efectos antidiabéticos de *Holdemanella biformis* CECT 9752, una bacteria intestinal aislada de heces de humanos metabólicamente sanos, en un modelo animal de obesidad. La administración de esta cepa de *H. biformis* durante 13 semanas a ratones con obesidad inducida por la dieta redujo los niveles de glucosa en ayuno y mejoró la tolerancia oral a la glucosa de forma independiente a la insulina y asociado a mayores niveles plasmáticos de la hormona gastrointestinal GLP-1, necesaria para el mantenimiento de las variaciones postprandiales de glucosa y la sensibilidad a insulina. A nivel del contenido luminal del intestino grueso, la suplementación con la bacteria incrementó los niveles de ácidos grasos insaturados, lo que indica un aumento de los niveles preabsortivos de potenciales secretagogos lipídicos de GLP-1, como el ácido oleico y  $\alpha$ -linoleico. A nivel del intestino delgado, la bacteria promovió la comunicación paracrina de GLP-1 con las inervaciones intestinales, pudiendo directamente incrementar la sensibilidad a GLP-1 de las neuronas vagales aferentes, mecanismo implicado en la comunicación intestino-cerebro que controla la producción endógena de glucosa. A nivel hepático, la suplementación con la bacteria redujo la gluconeogénesis y mejoró la sensibilidad a insulina.

En el segundo estudio hemos evaluado los efectos inmuno-metabólicos de *Phascolarctobacterium faecium* DSM 32890 en un modelo animal de obesidad inducido por dieta. Esta especie bacteriana consume succinato y produce propionato y la cepa fue aislada a partir de heces humanas de voluntarios metabólicamente sanos. La administración diaria de la bacteria al modelo de obesidad redujo el aumento de peso corporal y la ingesta de alimentos y mejoró la tolerancia oral a la glucosa. Estos beneficios se asociaron a un aumento sostenido de la hormona intestinal anorexigénica PYY en plasma y una prevención de la hipersecreción de GIP inducida por la dieta rica en grasa. Además, la bacteria normalizó la inmunidad intestinal alterada en la obesidad, reduciendo la proporción de los linfocitos intraepiteliales (ILC1 y TCR $\alpha\beta$ ), aumentando la de los macrófagos antiinflamatorios (M2) y mejorando la integridad de la barrera intestinal.