

Effect and mechanisms of action of intestinal bacteria and bioactive compounds on the immune system and metabolism in obesity models

RESUMEN

La obesidad representa un importante reto para la salud pública debido a su elevada prevalencia y a sus comorbilidades, como la diabetes tipo 2 (T2D, por sus siglas en inglés), la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés) y patologías cardiovasculares. Los factores ambientales y el estilo de vida contribuyen significativamente a la obesidad, siendo en gran medida prevenible y reversible. Sin embargo, el imparable aumento de su incidencia evidencia la necesidad de medidas más eficaces para el manejo de la obesidad. Las dietas hipercalóricas activan el sistema inmunitario intestinal y alteran la microbiota intestinal causando, en última instancia, daños metabólicos en el organismo. De hecho, la pérdida de homeostasis inmunológica a nivel intestinal se considera un evento que precede a la aparición de la inflamación sistémica de bajo grado asociada a la obesidad y sus complicaciones metabólicas. Dado que la microbiota intestinal es un factor modificable, por ejemplo, con intervenciones dietéticas, su modulación puede convertirse en una oportunidad para reducir el impacto de la obesidad. Es por ello que la identificación de los factores que participan en la respuesta inflamatoria a las dietas obesogénicas y la búsqueda de alternativas terapéuticas basadas en la microbiota constituyen una vía de investigación prometedora para combatir la obesidad.

Esta Tesis Doctoral pretende evaluar el potencial de nuevos probióticos y estrategias dietéticas para combatir la obesidad basadas en sus propiedades inmunomoduladoras.

En el Primer Capítulo hemos investigado el potencial anti-obesogénico del propil propano tiosulfinato (PTS), un compuesto organosulfurado derivado de la especie *Allium*, en dos dosis diferentes (0,1 o 1 mg/kg/día) utilizando un modelo murino de obesidad inducida por la dieta. Nuestros hallazgos demostraron los efectos protectores de PTS frente a la obesidad, ya que su administración redujo el peso corporal y mejoró la homeostasis de glucosa, lo que sugiere su potencial para reducir los efectos adversos de las dietas hipercalóricas. En el tejido adiposo y el hígado, PTS previno el aumento de la respuesta inflamatoria y las alteraciones del metabolismo lipídico causadas por la dieta hipercalórica. Además, PTS incrementó la actividad termogénica en el tejido adiposo marrón aumentando los marcadores de oxidación de ácidos grasos (*Ppara*, *Cpt1a*, *Prdm16*) y la actividad mitocondrial. Por último, a nivel intestinal, la dosis más alta de PTS normalizó los niveles de IL-22 y de los marcadores de la función barrera intestinal (*Cldn3*, *Muc2*, *Reg3g*, *DefA*) alterados por la dieta. Sin embargo, los cambios modestos en la composición de la microbiota intestinal indicarían que los efectos observados no estaban mediados de forma significativa por la microbiota.

En el Segundo Capítulo hemos evaluado el potencial anti-obesogénico y el mecanismo de acción de una nueva bacteria llamada *Phascolarctobacterium faecium* DSM 32890, aislada de un voluntario sano en nuestro laboratorio. Para ello, hemos realizado diferentes experimentos *in vitro* e *in vivo* usando diferentes cultivos celulares (macrófagos derivados de médula ósea y de células linfoides innatas intestinales del grupo 1 (LC1s)) y tres modelos murinos de obesidad inducida por la dieta (ratones C57BL/6J, ratones *Rag1^{-/-}* y ratones tratados con un inhibidor para evitar la polarización

de macrófagos M2). Cuando administramos esta bacteria a ratones alimentados con una dieta hipercalórica, observamos que *P. faecium* mejoraba la tolerancia a la glucosa, y reducía la adiposidad y el aumento de peso corporal independientemente de su viabilidad. Atribuimos estos beneficios a las propiedades inmunomoduladoras de *P. faecium*. Concretamente, a su capacidad para incrementar la proporción de los macrófagos M2 en el intestino que, a su vez, contribuían a inhibir el aumento de ILC1 pro-inflamatorias causado por la dieta hipercalórica. En este sentido, los efectos beneficiosos de *P. faecium* se anularon cuando se coadministró con un inhibidor de la polarización de macrófagos M2. Además, *P. faecium* reforzó la función barrera intestinal mediante el aumento de la IgA, la expresión de péptidos antimicrobianos (*Reg3g*, *Pla2g2a*) y la citoquina IL-22 evitando, en última instancia, la inflamación sistémica causada por la dieta hipercalórica. Por último, realizamos un amplio estudio con datos metagenómicos de 6.361 personas que mostró una relación inversa entre *P. faecium* y la obesidad, independientemente de la nacionalidad, el sexo o la edad, lo que sugiere la asociación de esta bacteria con la salud metabólica.

En el Tercer Capítulo, hemos investigado la implicación de las ILC1 residentes en el intestino en la progresión de la obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas. Para ello, hemos evaluado longitudinalmente la respuesta de las ILC1s a una dieta obesogénica y las consecuencias de la depleción de ILC1s en un modelo murino de obesidad. En el intestino, el bloqueo de ILC1s evitó el aumento de macrófagos M1 e ILC2s. Además, la depleción de ILC1s promovió la activación de la vía ILC3-IL22, aumentando la producción de mucina, la expresión de péptidos antimicrobianos (*Reg3g*, *Pla2g2a*) y el número de células neuroendocrinas. Además, el bloqueo de ILC1s restableció el perfil de la microbiota y el metaboloma, acercándose al perfil asociado con la salud metabólica. En última instancia, estas mejoras en la homeostasis intestinal se asociaron con una mayor secreción de hormonas intestinales, y una reducción de la insulinemia y la adiposidad.

En resumen, en esta Tesis Doctoral hemos evaluado el interés de dos nuevas estrategias para el manejo de la obesidad en modelos preclínicos que, de confirmarse en humanos, podrían constituir nuevas soluciones para tratar la obesidad. Por un lado, hemos visto que el compuesto organosulfurado PTS protege frente a la obesidad mediante una reducción en la inflamación y la inducción de la actividad termogénica. Por su parte, *P. faecium* puede considerarse un potencial probiótico de nueva generación con efectos protectores sobre la obesidad a través de la modulación de los macrófagos M2, que son claves mediadores del efecto anti-inflamatorio que ejerce en la obesidad. Además, hemos aportado nuevo conocimiento sobre la función que las ILC1 residentes en el intestino desempeñan en la obesidad como activadoras de las señales inflamatorias que desencadenan las dietas hipercalóricas.