

Índice

Contenido

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA	1
Agradecimientos	6
Abreviaturas	25
Introducción	28
1 Microbiota	30
1.1 ¿Qué es la microbiota?	30
1.2 Interacción con el hospedador	32
1.3 Eje Microbiota-Intestino-Cerebro	33
1.4 Sistema inmune en el intestino: GALT	37
1.5 Receptores Tipo-Toll (TLRs)	38
1.6 El receptor TLR4	41
1.7 Cuando falla el equilibrio: disbiosis	42
1.8 Etanol y microbiota	44
2 MicroARNs	45
3 Sistema Nervioso Central	49
3.1 El Sistema inmune en el cerebro	49
3.2 Etanol y SNC	51
3.3 El uso de los curcuminoides como terapia	53
3.4 Nanopartículas biodegradables capaces de atravesar la BE y paliar las lesiones cerebrales	55
Hipótesis y objetivos	60
Materiales y métodos	64
1 Síntesis y caracterización del nanoconjugado	66
2 Animales y tratamiento de alcohol	68
3 Tratamientos y recogida de muestras	69
3.1 Tratamiento de ratones WT y TLR4-KO para el estudio de la microbiota intestinal	69
3.2 Tratamiento de ratones WT y TLR4-KO para el perfil de miRNAs corticales	70
3.3 Tratamiento de ratones WT para el estudio de la curcumina	71
4 Análisis de la expresión génica	71
4.1 Extracción y aislamiento del material genético de las muestras	71
4.2 Control de calidad de los ácidos nucleicos	73
4.3 Retrotranscripción	74
4.4 Real-time qPCR	75

5	Generación de librerías	78
5.1	Librerías de ARNp y su secuenciación	78
5.2	Librerías del 16S rRNA bacteriano y su secuenciación.....	79
6	Métodos antígeno - anticuerpo	81
6.1	Western blot.....	81
6.2	Análisis de citoquinas	82
7	Análisis metabólico	83
8	Cultivos.....	83
9	Análisis bioinformático.....	84
9.1	Procesamiento de los datos provenientes de las librerías de 16S rRNA.....	84
9.2	Procesamiento de los datos provenientes de las librerías de ARNp.....	85
10	Análisis estadístico	86
	Resultados.....	88
1	Análisis de los miARNs corticales mediante Next-Generation Sequencing (NGS).....	90
2	Análisis de los niveles de expresión de los miARNs corticales	94
3	Expresión diferencial de miARNs asociada al consumo de alcohol en la corteza cerebral y el efecto del TLR4	95
4	Citotoxicidad <i>in vitro</i> de BDMC y StCIPr-BDMC-ANG en astrogliá.	100
5	El tratamiento con BDMC y StCIPr-BDMC-ANG atenúa la neuroinflamación debida al etanol	103
6	StCIPr-BDMC-ANG altera los cambios inducidos por el etanol en la expresión de miARNs asociados con la neuroinflamación	106
7	El tratamiento con etanol incrementó la expresión génica vinculada a la respuesta inflamatoria en el intestino	109
8	Análisis del peso corporal y de la ingesta en los distintos grupos experimentales ..	111
9	Impacto del TLR4 y el consumo de etanol en la comunidad microbiana intestinal..	112
10	La presencia del receptor TLR4 es un factor más importante para la microbiota intestinal que la edad o el consumo de etanol	116
11	El tratamiento con alcohol crónico y la deficiencia en la expresión del TLR4 pueden modificar la microbiota intestinal en los ratones	118
12	La microbiota bacteriana intestinal se modifica tanto por el consumo crónico del etanol como por la ausencia del TLR4 en ratones macho adultos.....	124
13	La comunidad bacteriana se modifica de forma distinta en las hembras que en machos por el consumo crónico de etanol y/o por la ausencia del receptor TLR4	128
14	Análisis del efecto del envejecimiento sobre los taxones bacterianos en hembras.	132
15	Papel del TLR4 en las alteraciones inducidas por el etanol en los genes estructurales del intestino	134

16	La abundancia de los taxones bacterianos se correlaciona con la expresión de genes intestinales específicos.....	136
17	Perfil de metabolitos analizado por RMN en cerebros de ratones WT y WTE	137
	Discusión	141
1	La corteza de los ratones TLR4-KO presenta un perfil de miARN único en alcohólicos crónicos	143
2	El nanoconjugado con curcumina reduce la neuroinflamación en alcohólicos crónicos	146
3	La ausencia del receptor TLR4 genera una microbiota diferente con otras adaptaciones tras el consumo de etanol	149
4	La microbiota intestinal cambia con el envejecimiento del hospedador	153
5	La ausencia del receptor TLR4 evita la inflamación intestinal debida al consumo crónico de etanol en machos	154
	Conclusiones	159
	Bibliografía	163