



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
MICROBIOMA INTESTINAL Y OBESIDAD:
AKKERMANSIA Y PREDISPOSICIÓN
GENÉTICA.**

Autor: Alba García Alonso.

Tutor: Carmina Rodríguez Fernández.

Convocatoria: Junio 2017.

RESUMEN

En la última década la obesidad ha alcanzado cifras de epidemia y la OMS estima que el número de individuos afectados continuará en aumento. Al ser una enfermedad de origen multifactorial, el tratamiento es complejo y deben seguirse unas pautas rigurosas y programas de intervención personalizada. Gracias a los avances en campos como la metagenómica, se ha comprobado que los individuos obesos presentan una composición de microbiota intestinal distinta a los individuos sanos, con un aumento de especies de Firmicutes y Clostridium y una disminución de *Bacteroidetes* y *Verrumicrobia* (*Akkermansia* spp.). La especial implicación de *A. muciniphila* en la restauración de la capa mucosa del intestino y en la regulación de la expresión de genes relacionados con el metabolismo (como GPR43, Fiaf y PPAR γ), hace que esta especie se haya convertido en el objetivo de nuevos tratamientos que estimulen su crecimiento, ya sea administrando probióticos o prebióticos (alimentos enriquecidos en polifenoles o saponinas). Paralelamente, se están investigando las implicaciones que tienen ciertas mutaciones génicas en la predisposición, el desarrollo y el progreso de la obesidad. Mutaciones como las del receptor de leptina, del gen FTO o del gen MC4R promueven un acúmulo excesivo de grasa y una disminución del efecto anorexígeno; mientras que otras mutaciones tienen un efecto protector frente a la obesidad, tales como la mutación del gen PPAR γ asociada al gen IL-6.

En este Trabajo de Fin de Grado se analiza la influencia del microbioma (microbiota) intestinal humano en el desarrollo de la obesidad, así como las consecuencias derivadas de las diferencias genéticas interindividuales en dicha enfermedad y sus posibles repercusiones terapéuticas.

Palabras clave: microbioma; *Akkermansia*; obesidad; polimorfismos; nutrigenómica.

1. Introducción y antecedentes. Objetivos.

El conocimiento del **microbioma humano** (totalidad de los genomas de la comunidad microbiana -**microbiota**- asociada al cuerpo humano) está teniendo consecuencias revolucionarias en la percepción del protagonismo de esta microbiota en la biología humana. Las potentes técnicas moleculares de secuenciación masiva y la evolución de la bioinformática, así como los métodos de metagenómica **gen 16SrRNA**, independientes del cultivo, han puesto de manifiesto una diversidad microbiana sin precedentes ^(1,2). Los

proyectos pioneros como Human Microbiome Project (3,4) o MetaHit (5), conforman las bases científicas y experimentales en el estudio del microbioma (particularmente del intestinal) y sus funciones en el hombre (6, 7).

La microbiota humana está compuesta aproximadamente de 39 000 millones de bacterias que colonizan numerosos hábitats como la piel, el sistema urogenital, la cavidad nasofaríngea y el tracto gastrointestinal. La mayor parte se encuentra en el intestino humano, en el que desempeña numerosas funciones relacionadas principalmente con el metabolismo, la homeostasis energética y la modulación del sistema inmunitario (5, 8, 9).

El estudio del **microbioma intestinal** y su papel tanto en la salud como en la enfermedad ha sido objeto de una extensa investigación que ha llevado a concluir que la microbiota está estrechamente relacionada con su hospedador. Diversas investigaciones demuestran que un desequilibrio o alteración de la microbiota intestinal (**disbiosis**) está asociada a trastornos gastrointestinales y al desarrollo de enfermedades metabólicas como la obesidad y la diabetes (9, 10). La disbiosis en la microbiota -única en cada individuo- y las características genéticas personales, plantean nuevas estrategias de tratamiento para estas enfermedades, mediante terapias individualizadas.

La **obesidad** se define como la acumulación excesiva de grasa e hipertrofia del tejido adiposo que lleva al aumento de peso. Se trata de una patología crónica, multifactorial y compleja, influenciada por factores intrínsecos y extrínsecos al individuo como son los factores genéticos, ambientales y conductuales (Figura 1).

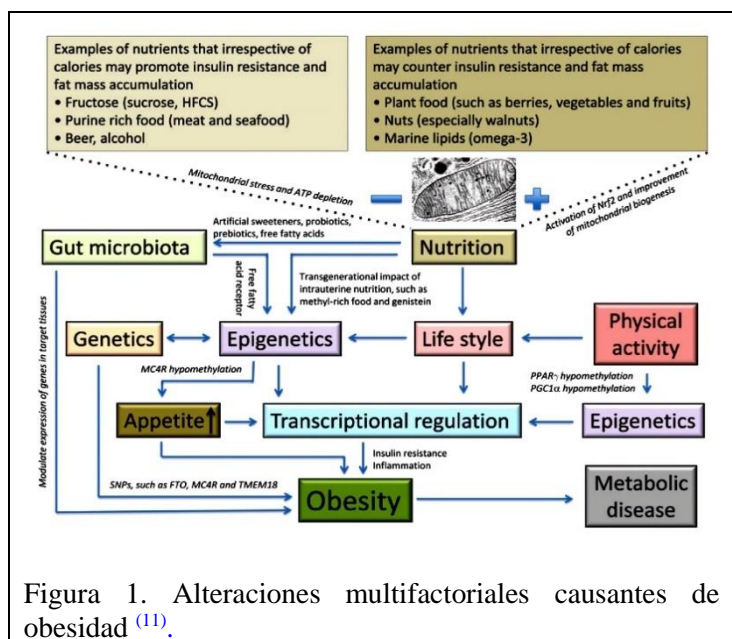


Figura 1. Alteraciones multifactoriales causantes de obesidad (11).

Desde hace una década esta enfermedad representa un importante problema de salud pública ya que afecta a una gran proporción de la población, sobre todo de países desarrollados (12). La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que la prevalencia de la obesidad ha alcanzado niveles de epidemia, actualmente 500 000 millones de adultos son obesos y se estima que en 2030 se seguirán elevando estos valores (13).

Los **objetivos** que se persiguen en este trabajo de Fin de Grado son:

- Poner de manifiesto la influencia de la microbiota intestinal sobre el desarrollo de la obesidad, resaltando la acción de ciertas especies como *Akkermansia muciniphila* y analizando los efectos protectores y perjudiciales que resultan de una disbiosis.
- Analizar cómo el polimorfismo génico puede influir en el desarrollo y prevención de la obesidad.

2. Metodología.

Se trata de una Revisión Bibliográfica. En su desarrollo se ha analizado información de revistas de divulgación científica y artículos científicos, consultados a partir de distintas fuentes:

PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>)

Med Line (<https://www.nlm.nih.gov/bsd/pmresources.html>)

Web of Science (<https://login.webofknowledge.com>)

Bucea (<http://biblioteca.ucm.es>) Cisne (<http://cisne.sim.ucm.es>)

Google Scholar (<https://scholar.google.co.in/schhp?hl=en>)

Elsevier (www.elsevier.com); Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>)

Las palabras clave de búsqueda fueron: *microbiome, human microbiome, human microbiota, obesidad, microbiota obesidad, gut microbiota obesity, intestinal microbiota obesity, microbiota diabetes obesity, gut microbiota obesity review, microbiota obesity nature, microbiota obesity diet, gut human microbiome project, microbioma reviews disease microbiome, intestinal microbiome, Akkermansia, gene polymorphism obesity.*

En PubMed: human gut microbiome OR gut microbiota AND obesity [TI] AND Akkermansia; gene polymorphism obesity; además de: Review, Free Full text, Clinical trial:

("gastrointestinal microbiome"[MeSH Terms] OR ("gastrointestinal microbiome"[MeSH Terms] OR ("gastrointestinal"[All Fields] AND "microbiome"[All Fields]) AND ("obesity"[MeSH Terms]. Akkermansia [All Fields] AND muciniphila[All Fields] AND ("obesity"[MeSH Terms] OR "genes"[All Fields] OR "gene"[All Fields]) AND ("polymorphism, genetic"[MeSH Terms] OR ("polymorphism"[All Fields] AND "genetic"[All Fields]) OR "genetic polymorphism"[All Fields] OR "polymorphism"[All Fields]) AND ("obesity"[MeSH Terms] OR "obesity"[All Fields]).

Se han consultado libros de texto de Microbiología, Química Farmacéutica y Nutrición.

La nomenclatura de siglas y abreviaturas científicas (DNA, RNA) se hizo según los criterios del Vocabulario Científico y Técnico (VCTRAC), de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (RACEFN) ⁽¹⁴⁾ y las recomendaciones de la International Union of Pure and Applied Chemistry IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature ⁽¹⁵⁾.

Para la escritura técnica de números, magnitudes y unidades se han seguido las normas ISO del Sistema Internacional de Unidades, publicadas en el Boletín Oficial del Estado y de uso obligatorio en cualquier documentación oficial.

3. Resultados y discusión.

3.1. Microbioma intestinal.

El microbioma del intestino humano engloba a más de 10^{14} microorganismos, lo que supone un contenido genético estimado entre 10-100 veces superior al genoma humano, y cuyas funciones son cruciales para el desarrollo y mantenimiento del cuerpo (9, 10, 16).

Entre las funciones principales desempeñadas por la microbiota destacan: a) inhibición de la proliferación y colonización de patógenos, ocupando nichos intestinales y compitiendo por nutrientes; b) diferenciación de células intestinales residentes como Th17 o células B productoras de IgA; c) funciones estructurales e histológicas y funciones metabólicas como la producción de vitaminas y nutrientes, biotransformación de ácidos biliares y degradación de elementos dietéticos no digeribles como polisacáridos o fibra dietética (16, 17). Por todas estas funciones fisiológicas, la microbiota intestinal tiene una relación mutualista con su hospedador y un papel clave en el mantenimiento de un estado de salud óptimo. La fermentación bacteriana anaerobia de la fibra dietética es una acción exclusiva de la microbiota anaerobia intestinal, que da como productos finales ácidos grasos de cadena corta (SCFA): acetato, butirato y propionato. Estos SCFA aportan el 10% de la energía diaria, además de ser importantes en el mantenimiento de diversos aspectos de la homeostasis intestinal como la motilidad intestinal, el flujo sanguíneo visceral y la inhibición de la colonización de patógenos (8, 9, 17).

3.1.1. Desarrollo de la microbiota intestinal.

La colonización y el desarrollo del microbioma intestinal comienza en el útero a través del microbioma placentario materno, aunque la cantidad de microorganismos que presenta el intestino del neonato es muy baja (10). El tracto gastrointestinal se coloniza rápidamente durante y después del parto y se han observado diferencias significativas en la composición de la microbiota intestinal entre niños nacidos por parto natural o mediante cesárea y entre aquellos alimentados con leche materna o de fórmula (8, 10, 18). Esta microbiota inicial es relativamente simple y presenta pequeñas diferencias inter-individuales durante el primer año, pero a medida que se producen cambios en el modo de alimentación del lactante, la microbiota intestinal va modificándose y volviéndose más estable hasta que a los 3 años, el individuo presenta una microbiota similar a un adulto. Los estudios metagenómicos y filogenéticos de muestras de heces revelan que, aunque la composición microbiana varía entre individuos, hay cierta similitud entre adultos sanos (8, 10, 18).

3.1.2. Composición de la microbiota intestinal y disbiosis.

La mayoría de la microbiota intestinal está representada por 5 Phyla bacterianos -*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*- junto al Phylum arcaico *Euryarchaeota* (8,9).

Bacteroidetes y *Firmicutes* son los Phyla prevalentes: *Firmicutes* (bacterias Gram positivas) está representado por los géneros *Ruminiococcus*, *Clostridium* y *Lactobacillus* -muchas de estas cepas se usan como probióticos-, mientras que *Bacteroidetes* (bacterias Gram negativas) está representado principalmente por *Bacteroides*, *Prevotella* y *Xylanibacter* (el Phylum *Bacteroidetes* representa aproximadamente el 30% de todas las bacterias intestinales).

Dentro del Phylum *Actinobacteria* (Gram positivas) cabe destacar la presencia del género *Bifidobacterium* -comúnmente usado como probiótico-; y en el Phylum *Proteobacteria* (Gram negativas), los géneros *Escherichia* y *Enterobacterium*.

Atención especial merece el género *Akkermansia*, del Phylum *Verrucomicrobia*. Recientemente se ha descrito su implicación específica en el desarrollo y prevención de ciertas patologías intestinales (8,9).

Aunque en un adulto sano las poblaciones bacterianas son básicamente estables, numerosos factores externos e internos pueden alterar dicha microbiota. Entre los factores externos destacan la carga microbiana del medio ambiente y los hábitos de alimentación del hospedador; y entre los factores internos, el pH intestinal, la temperatura, las interacciones propias de la microbiota y factores fisiológicos como el peristaltismo (10).

Estudios recientes consideran otros factores como el tratamiento farmacológico (principalmente la administración de antibióticos), la edad, el sexo, el estrés y la genética del individuo (9,17).

Aunque esta comunidad microbiana por lo general vive en armonía con su anfitrión, en ocasiones dicha relación armónica entre hospedador y hospedado (microbiota) se pierde. Este fenómeno de **disbiosis** puede definirse como un desequilibrio en el ecosistema microbiano caracterizado por cambios en la composición o función de los microorganismos. Es decir, algunas bacterias residentes pueden adquirir virulencia, pasando de ser simbioses a ser pathobioses, y contribuir al desarrollo y progresión de diversas enfermedades gastrointestinales y metabólicas (9, 17, 19), especialmente la obesidad y la diabetes (16, 17).

3.2. Obesidad.

Como se ha mencionado en la introducción, la obesidad es un padecimiento crónico complejo, de etiología multifactorial, que se desarrolla por un desequilibrio entre el consumo y el gasto energético. Esto conduce a una acumulación excesiva de energía en forma de grasa en el tejido adiposo, que hace que los adipocitos aumenten de tamaño (**obesidad hiperplásica**) y número (**obesidad hipertrófica**) ⁽²⁰⁾.

La determinación del sobrepeso o de la obesidad y sus grados (I-IV), se realiza mediante la clasificación del Índice de Masa Corporal (IMC), que relaciona el peso del individuo (expresado en kg) con la altura de dicho individuo (expresada en m²) ⁽²¹⁾.

Atendiendo a otros criterios, esta enfermedad metabólica puede clasificarse según la localización del exceso de grasa, definiéndose como **obesidad central o abdominal** a aquella que se produce cuando la grasa se acumula en cara, tórax y abdomen; y como **obesidad periférica** a la que se caracteriza por el acúmulo de grasa principalmente en cadera y muslo. La obesidad central se asocia a un mayor riesgo de dislipemia, diabetes, enfermedad cardiovascular y de mortalidad general, mientras que la obesidad periférica está especialmente relacionada con problemas de retorno venoso en las extremidades inferiores (varices) y con artrosis de rodilla (genoartrosis) ⁽²²⁾.

Actualmente se sabe que la obesidad es consecuencia de diferentes factores genéticos (enfermedades raras: Prader-Will, Carpenter, Cohen, Bardet-Bjedl), ambientales y conductuales (hábitos dietéticos, actividad física, ansiedad), así como otras patologías también pueden desencadenar la acumulación adiposa (Tabla 1) ⁽²¹⁾.

Origen de la obesidad	Enfermedad relacionada	Repercusión
Endocrino	Diabetes (Hiperinsulinemia)	El aumento de insulina, al ser una hormona anabolizante, favorece la síntesis de grasa y su depósito en tejido adiposo.
	Síndrome de Cushing (hiperfunción renal).	Produce un aumento de glucocorticoides que conlleva un incremento de peso con una distribución característica de la grasa en la región faciotroncular.
Hipotalámico	Lesión del núcleo ventromedial del hipotálamo.	Enfermedad poco frecuente en humanos que produce hiperfagia y, como consecuencia, obesidad.

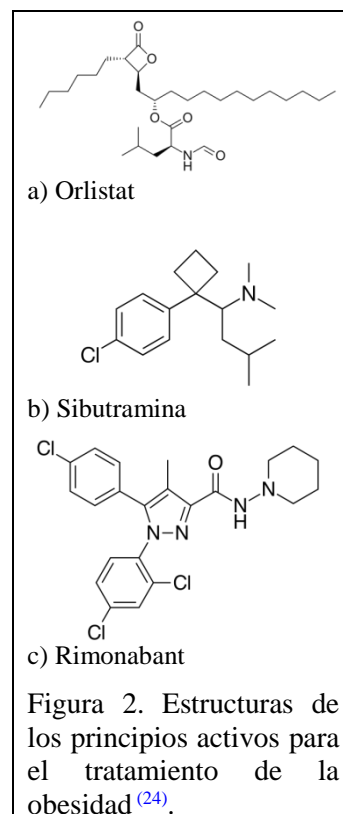
Tabla 1. Patologías relacionadas con la obesidad ⁽²¹⁾.

3.2.1. Tratamiento farmacológico de la obesidad.

La obesidad cursa con una inflamación crónica de bajo nivel en tejidos metabólicos tales como el tejido adiposo, el hígado y el músculo. Esta inflamación metabólica desencadena una serie de alteraciones como son el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina ^(19, 23).

El creciente aumento de la obesidad obliga a establecer criterios de intervención, tanto en el campo de la prevención como en el de la terapéutica. Para contrarrestar dicha patología es imprescindible adquirir y mantener hábitos saludables de alimentación y ejercicio; pero, en cuanto al tratamiento, no es fácil estandarizar un protocolo de actuación pues depende de distintas variables. El tratamiento farmacológico no debe utilizarse de forma aislada, sino que debe ser complementario a los planes de alimentación y cambios del estilo de vida. Su indicación está limitada a pacientes con IMC superiores a 30 kg/m² o mayores de 27 kg/m² si se asocian a comorbilidades altas ⁽²³⁾. Entre los fármacos utilizados para tratar esta patología destacan:

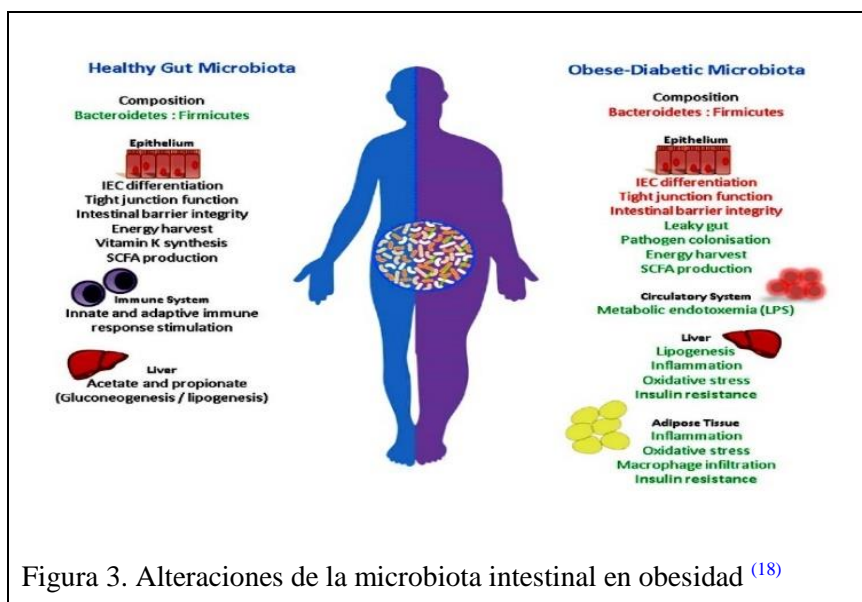
- **Orlistat:** inhibidor de las lipasas gástrica y pancreática que impide la hidrólisis de los triglicéridos de la dieta, reduciendo su absorción en un 30% y produciendo un balance energético negativo (Figura 2a). Junto a la pérdida de peso, se han descrito reducciones de las concentraciones de LDL y una reducción del contenido de grasa visceral superior en un 44% a la misma pérdida sin el fármaco, debido a que reduce el flujo de lípidos y ácidos grasos libres desde el intestino. La disminución del contenido lipídico en los tejidos sensibles a la insulina contribuye a mejorar la captación de glucosa en músculo e hígado y a mejorar la esteatosis hepática asociada a la obesidad. Así, el orlistat se ha asociado a una disminución de los factores de riesgo cardiovascular ⁽²³⁾.
- **Sibutramina:** amina terciaria que inhibe selectivamente la recaptación de noradrenalina y serotonina (Figura 2b). Produce pérdida de peso significativa por aumento de la sensación de saciedad y disminución del apetito. Su eficacia en la pérdida de peso se ha comprobado incluso en pacientes con DM2, en quienes la pérdida con medidas convencionales es escasa. Esta eficacia de adelgazamiento asociada a la sibutramina se acompaña de incremento de las concentraciones de HDL y reducción de las de triglicéridos, aunque no se modifican las cifras de colesterol total ⁽²³⁾.



- **Rimonabant**: antagonista de receptores de cannabinoides tipo 1 (Figura 2c). En la obesidad, los receptores endocannabinoides se encuentran sobreexpresados y el bloqueo de estos receptores en el hipotálamo y en el tracto gastrointestinal produce una disminución del apetito y de la ingesta de alimentos. Por otro lado, los receptores localizados en tejido adiposo, hepático y musculo esquelético mejoran la sensibilidad a la insulina y la dislipemia aterogénica que se asocia a obesidad (23).

3.3. Microbiota intestinal y obesidad.

El papel beneficioso que desempeña la microbiota intestinal sobre la homeostasis metabólica de su hospedador ha hecho replantearse la influencia de la microbiota y su disbiosis en el desarrollo de enfermedades metabólicas (Figura 3). Por ello, el principal objetivo de numerosos estudios ha sido establecer los diversos mecanismos por los que la microbiota intestinal puede desencadenar o exacerbar patologías como la obesidad.



3.3.1. Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad. Mecanismos.

I. **Factor de adipocito inducido en ayunas (Fiaf)**: Fiaf o **ANGPTL4**, producido por células epiteliales del intestino grueso e hígado, es un factor que inhibe la **lipoproteína lipasa (LPL)**, disminuyendo su capacidad para importar y almacenar ácidos grasos en tejidos periféricos. Se ha visto que la microbiota intestinal produce la inhibición de Fiaf (ANGPTL4) que conlleva un aumento de LPL y de la adiposidad en el hospedador (18, 25) (Figura 4).

II. **Saciedad:** Una de las acciones más importantes de la microbiota intestinal es la fermentación de los polisacáridos y proteínas que no son digeridos en el intestino delgado

en ácidos grasos de cadena corta (SCFA). Se ha demostrado que las fibras dietéticas y los SCFA incrementan la secreción de **GLP-1** (péptido implicado en el aumento de la saciedad y del tránsito intestinal) y son ligandos de **GPR41** (estimula la expresión de la hormona anorexigénica intestinal -PYY-) y **GPR43**

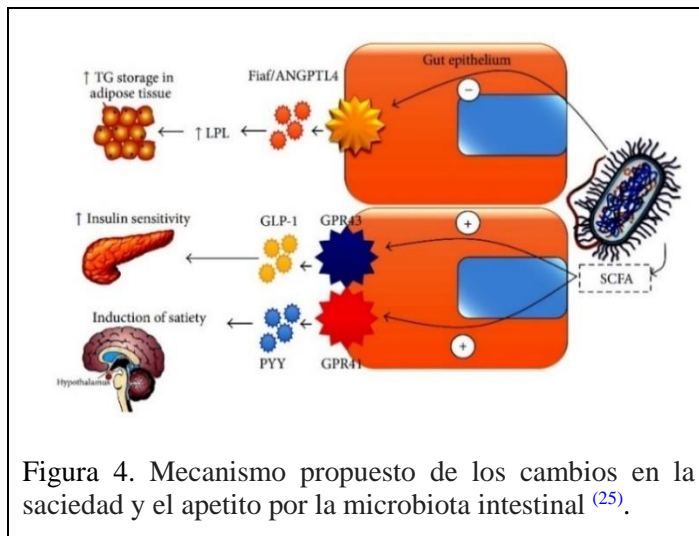


Figura 4. Mecanismo propuesto de los cambios en la saciedad y el apetito por la microbiota intestinal (25).

(regula el gasto de energía). Por tanto, una alteración de la microbiota intestinal puede afectar a la ingestión de alimentos y la adiposidad del individuo (18, 25) (Figura 4).

III. **Circulación de ácidos biliares:** los ácidos biliares primarios son ligando de **FXR**, receptor que actúa en el control de la lipogénesis hepática *de novo*, de la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) y de los triglicéridos plasmáticos,

conduciendo a un mejor metabolismo de los lípidos y de la glucosa. Distintos estudios sugieren que la expresión de genes responsables de la absorción, transporte y exportación de ácidos biliares son dependientes de la microbiota intestinal. Cuando los ácidos biliares primarios llegan al intestino grueso, la microbiota los transforma en ácidos biliares secundarios que son ligandos del **TGR5**, receptor asociado a GLP1

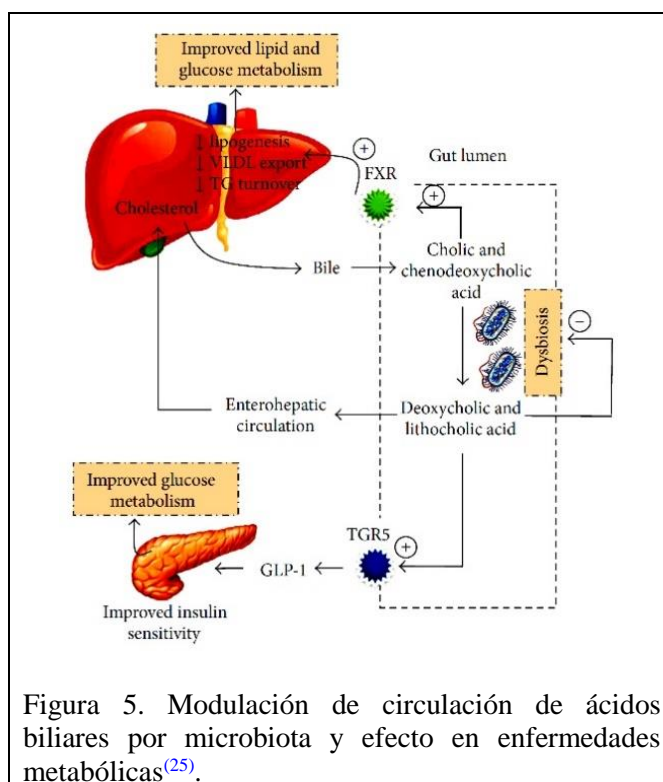


Figura 5. Modulación de circulación de ácidos biliares por microbiota y efecto en enfermedades metabólicas (25).

e implicado en la homeostasis de la glucosa. Por tanto, la microbiota intestinal afecta a la adiposidad alterando la circulación de los ácidos biliares a través de FXR y TGR5 (18, 25) (Figura 5).

IV. **Lipopolisacárido bacteriano (LPS):** la microbiota intestinal puede contribuir a la

inflamación crónica de bajo grado característica de la obesidad a través de la absorción de la **endotoxina LPS**, componente de la membrana externa de bacterias Gram negativas, que estimula la expresión de marcadores de inflamación y de estrés oxidativo en el tejido adiposo visceral a través de la activación de **TLR4**. Un estudio donde se administró LPS bacteriano por vía subcutánea a ratones dio como resultado el mismo nivel de endotoxemia metabólica que una dieta de alto contenido de grasas.

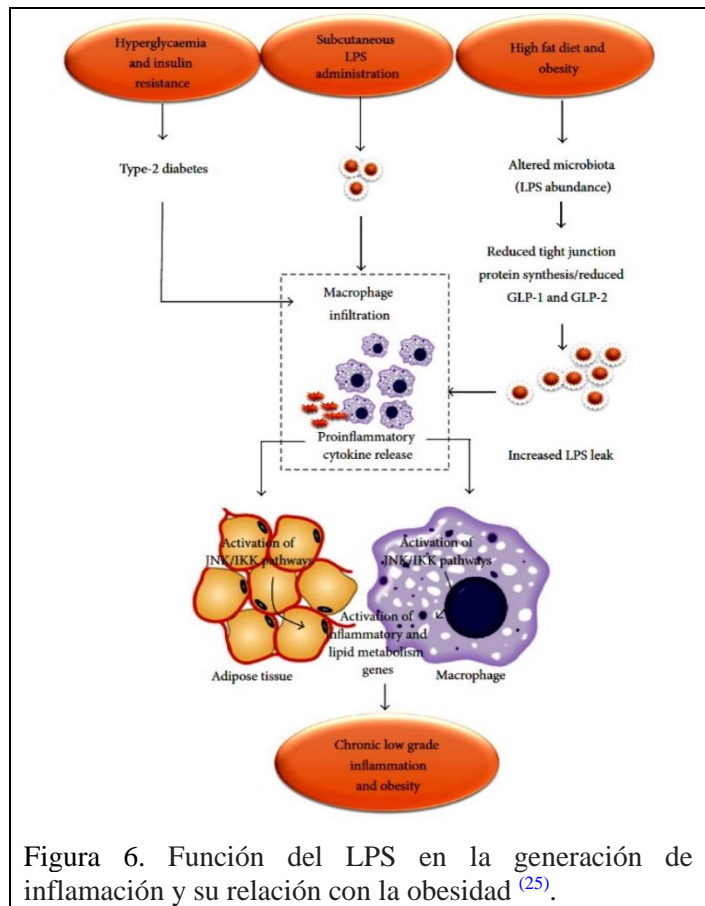


Figura 6. Función del LPS en la generación de inflamación y su relación con la obesidad (25).

Así mismo se ha observado que el tratamiento con antibióticos que inhiben o matan a las bacterias Gram negativas (LPS) disminuye la inflamación (Figura 6).

V. **Sistema endocannabinoide:** el sistema endocannabinoide se compone de lípidos endógenos que representan un importante papel en la adipogénesis. El LPS bacteriano regula la expresión de los receptores cannabinoides **CB1** y **CB2** y, por tanto, de la actividad de este sistema, influyendo así en la adiposidad del individuo.

VI. **Oxidación de ácidos grasos:** la oxidación de ácidos grasos de músculo e hígado está asociada a un estado de energía celular óptimo y a un aumento de la sensibilidad a la insulina. Se ha comprobado que la microbiota intestinal reduce la oxidación de estos ácidos grasos mediante la supresión de la adenosina monofosfato quinasa (**AMPK**), lo que produce un exceso de almacenamiento de ácidos grasos en estos tejidos y conduce a un aumento del tejido adiposo periférico y de la adiposidad (18, 25).

3.3.2. Influencia de la dieta en la composición de la microbiota intestinal.

El efecto de los factores ambientales, especialmente la dieta, contribuye de forma importante a los cambios en la composición y función de la microbiota intestinal. Este hecho se ha estudiado en modelos animales, realizando múltiples estudios con diferentes tipos de dietas ⁽²⁵⁾.

La ingestión de **dietas con alto contenido en grasa** modifica la composición de la microbiota intestinal de los animales y del hombre, y las alteraciones que producen se relacionan con efectos metabólicos nocivos para la salud ⁽¹⁸⁾. En la mayoría de los estudios realizados con este tipo de dieta, se ha visto un aumento notable de las poblaciones de *Firmicutes* y una reducción de *Bacteroidetes*. Estas dietas se relacionan con cambios en los marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo que son importantes en la inflamación ⁽²⁵⁾. Una dieta alta en grasa administrada a ratones con disfunción en el sistema inmunitario (con participación de la endotoxina LPS), aumentó 3 veces los niveles sistémicos de LPS y la cantidad de masa grasa corporal. Así mismo, se vio que suplementando con **oligofructosa** esta misma dieta, se restauran las bifidobacterias gracias a la expresión de GLP-1, lo que disminuye la endotoxemia metabólica ⁽²⁵⁾.

Las dietas con elevado contenido en **grasas saturadas** promueven el crecimiento de especies patógenas, como *Bilophila wadsworthia*, y activan marcadores proinflamatorios del tejido adiposo; mientras que las dietas ricas en **ácidos grasos poliinsaturados** disminuyen la inflamación y favorecen el crecimiento de *Lactobacillus* y *Akkermansia* ^(18, 25). Otros estudios muestran que la incorporación de prebióticos en la dieta, como **fructanos u oligofructosa**, estimulan el crecimiento de bifidobacterias, reducen el peso y aumentan los niveles de PYY (hormona anorexigénica intestinal) ⁽²⁵⁾.

Por otra parte, se ha comprobado que una **ingestión mayor de almidón** está asociada a un aumento de *Eubacterium* y *Ruminococcus*. Sin embargo, cuando a los animales obesos (ratones) se les administra una dieta baja en carbohidratos y alto contenido de proteínas, se produce una disminución de ambos géneros y de actinobacterias. Por otra parte, las **dietas ricas en fibra** se asocian con una mayor producción de SCFA fecal, lo que conlleva una menor incidencia de la obesidad y de los síntomas de la enfermedad metabólica ^(18, 25, 26).

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la dieta en los programas de intervención para el tratamiento y prevención de la obesidad, mediante la modulación de la microbiota intestinal.

3.3.3. Bacterias intestinales obesogénicas y antiobesogénicas.

Como se ha mencionado a lo largo del trabajo, una característica de las personas obesas es el cambio en la composición de su microbiota intestinal, en la que aumentan los géneros y especies obesogénicas y disminuyen las especies antiobesogénicas^(25, 26) (Tabla 2).

Dentro de las **especies obesogénicas** que favorecen la obesidad, en modelos animales (ratones), destacan *Clostridium cluster* y *C. ramosum*, relacionadas con el síndrome metabólico y la obesidad. Además, otras especies como *Escherichia coli* y *Enterobacter cloacae* (bacterias Gram negativas, con LPS), producen inflamación de bajo grado y obesidad en ratones alimentados con dietas altas en grasa. Sin embargo, las especies que presentan el efecto más pronunciado sobre la adiposidad son *Parabacteroides distasonis* y *Bacteroides vulgatus*⁽²⁶⁾.

En cuanto a las especies que ejercen un efecto **protector o antiobesogénico** caben destacar las especies del género *Bifidobacterium*, cuya relación inversa entre el tamaño de la población bacteriana y la incidencia de la enfermedad sugiere una acción protectora. Dentro de este grupo también se encuentra el género *Lactobacillus*, aunque los efectos en esta patología dependen de la especie. Se ha visto que *L. acidophilus*, *L. fermentum* y *L. reuteri* promueven el aumento de peso, mientras que *L. platarum* y *L. gasseri* se asocian con la pérdida de peso. Actualmente, se están realizando numerosos estudios para determinar el potencial probiótico de *Faecalibacterium prausnitzii* en la obesidad, ya que esta especie está implicada en el sistema endocannabinoide y tiene efectos protectores en respuestas inflamatorias agudas. No obstante, una de las especies que tienen mayor interés como objeto de estudio, por su importante protagonismos en la obesidad, es *Akkermansia muciniphila*⁽²⁶⁾.

Bacteria	Association* with obesity	Group	Level	Other associations
<i>Lactobacillus reuteri</i>	+ve	Firmicutes	Species	—
<i>Clostridium cluster</i> XIVa	+ve	Firmicutes	Group	Anti-inflammatory
<i>E. coli</i>	+ve	Proteobacteria	Species	Nonalcoholic steatohepatitis (NASH)
<i>Staphylococcus</i> spp.	+ve	Firmicutes	Genus	Energy intake
<i>Bacteroides</i>	-ve/+ve	Bacteroidetes	Genus	Controversial
<i>Akkermansia muciniphila</i>	-ve	Verrucomicrobia	Species	Mucus degradation
<i>Methanobrevibacter smithii</i>	-ve	Archaea	Species	Increase in anorexia
<i>Clostridium cluster</i> IV; <i>F. prausnitzii</i>	-ve	Firmicutes	Species	Anti-inflammatory
Bifidobacteria	-ve	Actinobacteria	Genus	-ve association with allergy

* Associations based on correlation or regression analysis or statistically significant differences between the lean and obese. +ve: positive association, -ve: negative association, and +ve/-ve: controversial.

Tabla 2. Géneros y especies bacterianos intestinales relacionados con la obesidad en estudios con humanos⁽²⁵⁾.

3.4. *Akkermansia muciniphila*.

Akkermansia muciniphila es un bacilo Gram negativo anaerobio estricto, del Phylum *Verrucomicrobia*, representa el 3-5% de la microbiota intestinal y coloniza la capa mucosa de las células epiteliales (7, 27). Su función principal es la formación de propionato y acetato (SFCA) mediante la degradación de mucina, que utiliza como única fuente de carbono y nitrógeno (19). Estos sustratos pueden servir como fuente de energía a otras bacterias (alimentación cruzada), lo que implica que *A. muciniphila* contribuye en el crecimiento de especies con acción beneficiosa contra la obesidad (28).

Estudios recientes (29) muestran que existe una relación directa entre la presencia de *A. muciniphila* y menor incidencia de obesidad. Se ha puesto de manifiesto su participación en la función de la barrera intestinal, en la inflamación metabólica y en el almacenamiento de la grasa (27). Esta especie, además del propionato, regula la expresión de diversos factores de transcripción y de genes implicados en la homeostasis metabólica del cuerpo humano.

De este modo es capaz de: a) reducir en un 40% la expresión de la **glucosa 6-fosfatasa hepática**, que lleva a una reducción del índice de resistencia a la insulina (acción realizada también mediante su participación en el sistema endocanabinoide); b) aumentar la expresión de mRNA de **marcadores de diferenciación** de adipocitos y oxidación de ácidos grasos; c) reducir la **endotoxemia metabólica** mediante la restauración de la capa de moco y el aumento de los niveles intestinales de 2-AG; d) modula los genes implicados en la supervivencia celular, más específicamente en la señalización del receptor de muerte celular (30, 31) (Figura 7).

Existe una relación directa entre *A. muciniphila*, propionato y butirato (AmPB) y la expresión génica de GPR43, Fiaf, PPAR γ y HDAC: AmPB disminuye GPR43 y aumenta la expresión de Fiaf (reduce el almacenamiento de

grasa), PPAR γ y HDAC3 y HDAC5, (disminuyen inflamación intestinal y sistémica) (27, 31).

En resumen, estos resultados corroboran la función beneficiosa de *A. muciniphila* en la homeostasis de la glucosa, la inflamación del tejido adiposo y en la acumulación de la grasa.

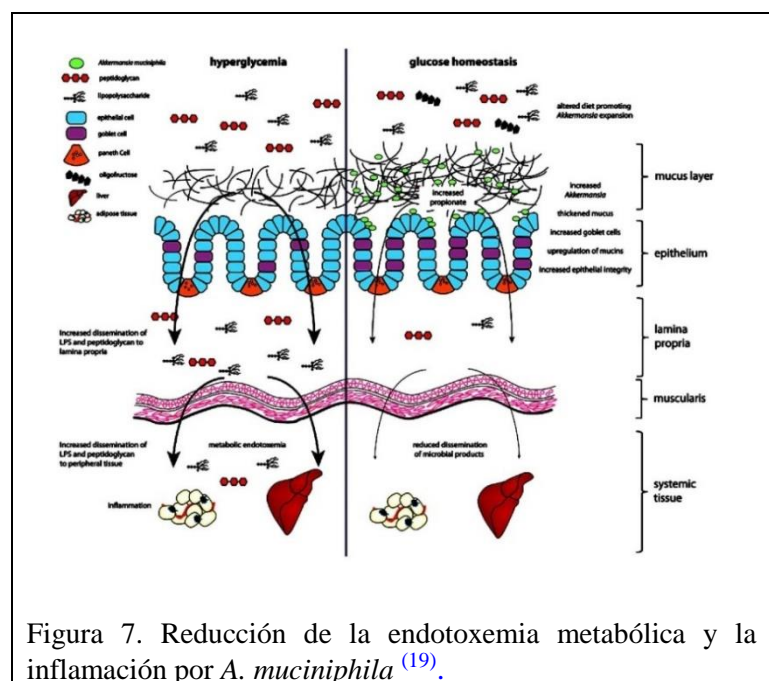


Figura 7. Reducción de la endotoxemia metabólica y la inflamación por *A. muciniphila* (19).

3.4.1. Modulación de *Akkermansia muciniphila* por la dieta.

El tipo de dieta es un factor clave en la modulación de la microbiota intestinal y numerosas investigaciones confirman su efecto sobre *A. muciniphila*.

En estudios en modelos animales, en los que se administró **una dieta rica en grasa (HFD)**, se observó que *A. muciniphila* disminuyó hasta llegar a un nivel 10 000 inferior al inicial. Estos niveles de *A. muciniphila* se correlacionaron proporcionalmente con los niveles de casi todos los parámetros implicados en la oxidación de ácidos grasos; mientras que lo hicieron de manera inversa con los marcadores inflamatorios, síntesis de lípidos y varios marcadores plasmáticos de resistencia a la insulina y adiposidad. Por este motivo, en el estudio se suplementó la dieta con *A. muciniphila* como probiótico, lo que condujo a mitigar el impacto de HFD en la barrera intestinal, el aumento de peso corporal y la ganancia de masa grasa ⁽³²⁾.

Otra característica importante es la **composición de ácidos grasos de la dieta**: una dieta enriquecida con manteca promueve una disminución significativa de la especie mientras que, si la dieta esta enriquecida con grasas poliinsaturadas, los niveles de *A. muciniphila* aumentan, lo que se asocia a un mejor control de la función de la barrera intestinal y una menor inflamación del tejido adiposo ⁽³²⁾.

Así mismo, se ha estudiado el efecto que la **administración de prebióticos** tiene sobre *A. muciniphila*. La administración de dietas con **oligofructosa** a ratones obesos aumentó 100 veces la abundancia de la especie. Sin embargo, *A. muciniphila* no crece en medios enriquecidos con oligofructosa, lo que sugiere que las interacciones de la alimentación cruzada son las causantes de este efecto ⁽²⁷⁾. Lo mismo ocurre con alimentos ricos en **polifenoles** (como el

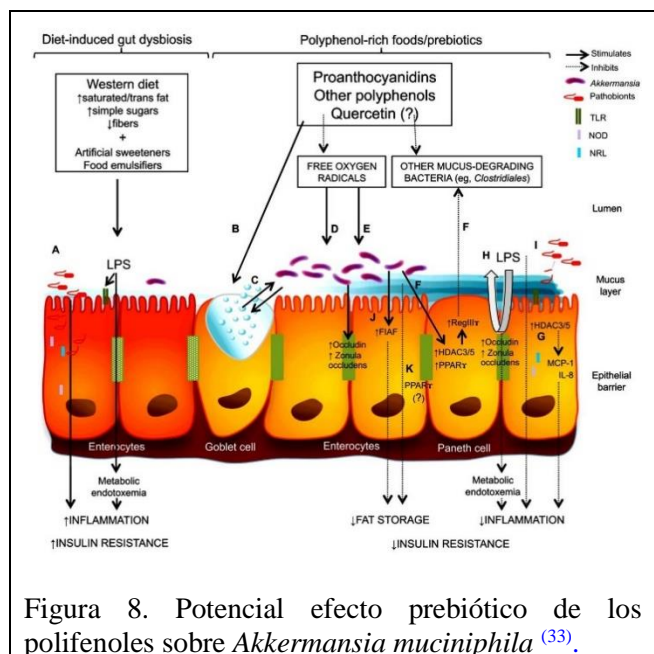


Figura 8. Potencial efecto prebiótico de los polifenoles sobre *Akkermansia muciniphila* ⁽³³⁾.

arándano o la uva) o en **saponinas** (como el aguamiel): estimulan el crecimiento de *Akkermansia muciniphila* y disminuyen la proporción de *Firmicutes* respecto a *Bacteroidetes*. El crecimiento de *A. muciniphila* puede deberse a la acción antioxidante de los polifenoles, que eliminan los radicales libres para los que esta especie no tiene protección ⁽³⁴⁾ (Figura 8).

Para comprobar la modulación de *Akkermansia muciniphila* por la dieta, se realizó un estudio con pacientes obesos que se sometían a un **programa de pérdida de peso** basado en una dieta enriquecida con bajo aporte calórico. Este estudio mostró un aumento de los Phyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobiota*, siendo *A. muciniphila* una de las pocas especies que aumentaron en abundancia desde el comienzo hasta el final del tratamiento ⁽³⁵⁾. Además, se vio que los individuos con niveles bajos de *A. muciniphila* eran menos propensos a responder positivamente a la dieta de restricción calórica ⁽³²⁾.

A la vista de estos resultados se puede concluir que *A. muciniphila* puede usarse como identificador de diagnóstico o pronóstico para predecir el éxito de intervenciones dietéticas y como diana terapéutica para tratar enfermedades metabólicas como obesidad.

3.5. Polimorfismo genético y obesidad.

Como se ha visto, la obesidad está fuertemente afectada por factores ambientales como la dieta, los hábitos de vida y la microbiota del individuo. Junto a ellos, los factores genéticos también son claves en el desarrollo y progreso de esta patología. Existen un gran número de **polimorfismos genéticos** asociados a factores de riesgo de obesidad y a la capacidad de las personas obesas para perder o ganar peso. Estos aspectos están siendo estudiados actualmente por los grupos de investigación más importantes del mundo ⁽¹³⁾.

Uno de los mecanismos epigenéticos más importantes para la regulación de la expresión génica es la **metilación de ADN**, alteración química que se ha asociado a la obesidad al estar presente en genes propios de leucocitos y tejido adiposo. Así, la metilación del ADN de genes como **HIF3**, **TRIM3** y **POMC** está relacionada con el aumento de peso y de obesidad. Sin embargo, en un estudio diferente se observó que una disminución de los niveles de metilación en el **promotor NPY** se asociaron con un mayor riesgo de padecer esta enfermedad ⁽¹³⁾.

Otro proceso que afecta al desarrollo y a la prevención de esta patología es la alteración de genes relacionados con el proceso de **oxidación de ácidos grasos (FAO)**, pues distintos estudios muestran que el polimorfismo de genes como **CD36**, **CPT**, **ACS** y **FABP**, tuvo influencia en la pérdida de peso en sujetos obesos. El polimorfismo rs2419621 del ADN de ACS influye en la capacidad de esta enzima para iniciar la FAO y, por tanto, en la capacidad del individuo de perder peso. Por otra parte, distintas variaciones genéticas en CD36 (rs3211867 o rs3211308) están relacionadas con el IMC y el porcentaje de grasa corporal ⁽³⁶⁾.

3.5.1. Mutaciones monogénicas y digénicas relacionadas con la obesidad

No existe un conjunto de genes específicos que determinen la obesidad en una persona, pero si se conoce una serie de genes que regulan la saciedad y el consumo de energía en los procesos metabólicos, predisponiendo de este modo el sobrepeso o la obesidad en los individuos que los presentan. Se han estudiado más de 430 genes que están relacionados con la obesidad, entre los que destacan:

- I. **Gen Lep:** la leptina es un péptido que genera un estímulo anorexígeno a través de su acción sobre el hipotálamo, produciendo una disminución de la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos en los adipocitos y aumentando la oxidación lipídica y el gasto energético basal. La **metilación del promotor Lep** se vio asociada a mujeres que presentaron obesidad, embarazo y diabetes mellitus gestacional. Por otra parte, una **mutación puntual en el receptor de leptina** provoca el desanclaje de la membrana y su circulación por sangre, lo que conlleva una disminución del número de receptores funcionales y de la unión de leptina con los receptores de membrana ^(12, 13).
- II. **Gen POMC y MC4R:** gen de la proopiomelanocortina (POMC) es el responsable de la secreción de melanocortina (MSH) y una mutación en el mismo produce una deficiencia en la vía leptina-melanocortina que conlleva una disminución de la acción anorexigénica de la leptina. Además, la melanocortina actúa sobre el **Gen MC4R** produciendo por sí misma un estímulo anorexigénico a nivel central. Este gen sufre numerosas mutaciones, como el polimorfismo rs17782313, que conducen a una obesidad de inicio precoz, con una importante acumulación de grasa y un aumento del IMC, hiperfagia e hiperinsulinismo ⁽¹²⁾.
- III. **Gen PPARG:** receptor Gamma para sustancias proliferativas de peroxisomas es un receptor hormonal que está relacionado con la diferenciación del adipocito, la adipogénesis y la sensibilidad a la insulina. La mutación **Pro115Gly** asociada a otra mutación en el gen PPP1R3A es la primera causa digénica de obesidad precoz e insulinoresistencia. También se ha visto que el polimorfismo **Pro12Ala** de este mismo gen mejora la sensibilidad a la insulina y disminuye el IMC en los pacientes obesos, por lo que es considerada una mutación protectora contra obesidad y diabetes ⁽¹²⁾.
- IV. **Gen IL-6:** la interleucina-6 es secretada en el tejido adiposo y regula la termogénesis central a través de la AMPK. Se ha corroborado que la acción protectora de la variante Pro12Ala del gen PPARG es potenciada por la presencia simultánea del polimorfismo -174 G>C del gen IL-6 ⁽¹²⁾.

- V. **Gen ADRB3:** gen del receptor beta 3 adrenérgico es el principal gen implicado en la regulación del metabolismo basal y la lipólisis en el tejido adiposo y se expresa principalmente en los adipocitos del tracto gastrointestinal. El polimorfismo rs4994 (**Trp64Arg**) de este gen está asociado con una disminución del metabolismo basal y la lipólisis que conduce al aumento del peso a largo plazo, a la obesidad y al síndrome metabólico ⁽¹²⁾.
- VI. **Gen FTO:** gen asociado a masa grasa y obesidad (FTO) se expresa en diferentes tejidos como el adiposo y las células beta, pero principalmente es expresado en el hipotálamo y la hipófisis. Se ha estudiado que el polimorfismo rs9939609 en el primer intrón del gen, puede conducir a un individuo a la obesidad mediante el papel que desempeña sobre el IMC y en el control de la ingesta de alimentos con su acción sobre la regulación de grelina (reduce la saciedad postprandial, la plenitud y estimula el apetito) ^(12, 37, 38).

4. Conclusiones.

1. La microbiota intestinal de un individuo “sano” está compuesta principalmente por 5 Phyla bacterianos, siendo *Bacteroidetes* y *Firmicutes* los más abundantes.
2. La participación de la microbiota en distintas rutas metabólicas como la oxidación de ácidos grasos o la circulación de ácidos biliares, influyen en el desarrollo de la obesidad. Las especies obesogénicas como *Clostridium ramosum* y especies antiobesogénicas como *Akkermansia muciniphila*.
3. Una de las especies que parecen tener un especial protagonismo en el desarrollo de la obesidad es *A. muciniphila*.
4. *A. muciniphila* aumenta la expresión de factores antiobesogénicos, como Fiaf, PPary y HDAC, y tiene propiedades antiinflamatorias. Un incremento en la población de *A. muciniphila* reestablece la función de barrera intestinal, normalizando la endotoxemia metabólica y el metabolismo del tejido adiposo.
5. Dietas ricas en grasa disminuye la concentración de *A. muciniphila* mientras que el consumo de alimentos ricos en polifenoles la aumentan.
6. El polimorfismo genético está asociado a factores de riesgo de obesidad. Deterinadas mutaciones disminuyen la expresión de genes antiobesogénicos, como el gen RLEP.
7. La farmacogenómica y la nutrigenética podrían explicar la razón de las distintas respuestas al tratamiento de la obesidad, según los pacientes, y ser muy útiles en el diseño de intervenciones personalizadas.

5. Bibliografía.

- 1) Kurokawa, K., et al., 2007. Comparative Metagenomics Revealed Commonly Enriched Gene Sets in Human Gut Microbiomes. *DNA Res* 14, 169–181. doi:10.1093/dnares/dsm018.
- 2) Ley, R.E., et al., 2008. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science* 320, 1647-1651.
- 3) Group, T.N.H.W., Peterson, J., et al., 2009. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* 19, 2317–2323. doi:10.1101/gr.096651.109.
- 4) Human Microbiome Project Consortium 2012. A framework for human microbiome research. *Nature.*;486:215-221.
- 5) Qin, J., et al., 2010. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464, 59–65. doi:10.1038/nature08821.
- 6) Festi, D, et al., 2014. Gut microbiota and metabolic syndrome. *World J Gastroenterol.* 21;20(43):16079-16094. doi: 10.3748/wjg.v20.i43.16079.
- 7) Mandal R.S., Saha S., Das S., 2015. Metagenomic Surveys of Gut Microbiota. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* 13, 148–158. doi:10.1016/j.gpb.2015.02.005.
- 8) Barlow G.M., Yu A., Mathur R., 2015. Role of the Gut Microbiome in Obesity and Diabetes Mellitus. *Nutrition in Clinical Practice* 30, 787–797. doi:10.1177/0884533615609896.
- 9) Carlucci C., Petrof E.O., Allen-Vercoe E., 2016. Fecal Microbiota-based Therapeutics for Recurrent *Clostridium difficile* Infection, Ulcerative Colitis and Obesity. *EBioMedicine* 13, 37–45. doi:10.1016/j.ebiom.2016.09.029.
- 10) Bull M.J, Plummer N.T., 2014. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integrative Medicine*; 13(6).
- 11) Stenvinkel, P., 2014. Obesity—a disease with many aetiologies disguised in the same oversized phenotype: has the overeating theory failed? *Nephrology Dialysis Transplantation* 30, 1656–1664. doi:10.1093/ndt/gfu338
- 12) Quesada F.V., 2013. Polimorfismos genéticos implicados en la predisposición a obesidad infantil. Tesis doctoral, Universidad de Salamanca, departamentos de obstetricia, ginecología y pediatría, Salamanca.
- 13) Lopomo A., Burgio E., Migliore L., 2016. Chapter Six - Epigenetics of Obesity, in: Ya-Xiong Tao (Ed.), *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Academic Press, pp. 151–184. doi:10.1016/bs.pmbts.2016.02.002
- 14) Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (Ed.), 1996. *Vocabulario científico y técnico*, 3. ed. ed. Espasa Calpe, Madrid.
- 15) IUPAC-IUB Comm. on Biochem. Nomencl, 1970. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. Abbreviations and symbols for the description of the conformation of polypeptide chains. Tentative rules (1969). *Biochemistry* 9, 3471–3479.
- 16) Lau E., et al., 2015. Beyond gut microbiota: understanding obesity and type 2 diabetes. *HORMONES*. doi:10.14310/horm.2002.1571.
- 17) Nagao-Kitamoto H., et al., 2016. Pathogenic role of the gut microbiota in gastrointestinal diseases. *Intest Res* 14, 127–138.
- 18) Patterson E, et al., 2016. *Postgrad Med J.* Gut microbiota, obesity and diabetes.92:286–300.
- 19) McPhee J.B., Schertzer J.D., 2015. Immunometabolism of obesity and diabetes: microbiota link compartmentalized immunity in the gut to metabolic tissue inflammation. *Clinical Science* 129, 1083–1096. doi:10.1042/CS20150431.
- 20) Blancas-Flores G, et al., 2010: “La obesidad como un proceso inflamatorio”. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* [online], vol.67 (2), pp.88-97.
- 21) Barbany M., Foz M., 2002. Obesity: concept, classification and diagnosis. *ANALES Sis San Navarra*, Vol 25. Suplemento 1.
- 22) Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO), 2000: Consenso SEEDO’2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Medicina Clínica* 115, 587–597. doi:10.1016/S0025-7753(00)71632-0.
- 23) Salas-Salvado J., et al., 2007. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Medicina Clínica* 128, 184–196. doi:10.1016/S0025-7753(07)72531-9

- 24) Ege, S.N., 2008. Química orgánica: estructura y reactividad. Reverté, Barcelona.
- 25) Khan M.J., et al., 2016. Role of Gut Microbiota in the Aetiology of Obesity: Proposed Mechanisms and Review of the Literature. *Journal of Obesity*, 1–27. doi:10.1155/2016/7353642.
- 26) Woting A., Blaut M., 2016. The Intestinal Microbiota in Metabolic Disease. *Nutrients* 8, 202. doi:10.3390/nu8040202.
- 27) Everard A., et al., 2013. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 9066–9071. doi:10.1073/pnas.1219451110.
- 28) Dao M.C, et al., 2016. Gut *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology; 65:426–436.
- 29) Isokpehi, R., Simmons, S., Johnson, M., Payton, M., 2017. Genomic Evidence for Bacterial Determinants Influencing Obesity Development. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14, 345. doi:10.3390/ijerph14040345
- 30) Shivaji, S., 2017. We are not alone: a case for the human microbiome in extra intestinal diseases. *Gut Pathogens* 9. doi:10.1186/s13099-017-0163-3
- 31) Lukovac S., et al., 2014. Differential modulation by *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* of host peripheral lipid metabolism and histone acetylation in mouse gut organoids. *mBio* 5(4): e01438-14. doi:10.1128/mBio.01438-14.
- 32) Schneeberger, M. et al., 2015. *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Sci. Rep.* 5, 16643; doi:10.1038/srep16643.
- 33) Anhê F.F., et al., 2015. Gut Microbiota Dysbiosis in Obesity-Linked Metabolic Diseases and Prebiotic Potential of Polyphenol-Rich Extracts. *Current Obesity Reports* 4, 389–400. doi:10.1007/s13679-015-0172-9
- 34) Roopchand D.E., et al., 2015. Dietary Polyphenols Promote Growth of the Gut Bacterium *Akkermansia muciniphila* and Attenuate High-Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome. *Diabetes* 64, 2847–2858. doi:10.2337/db14-1916.
- 35) Louis S., et al., 2016. Characterization of the Gut Microbial Community of Obese Patients Following a Weight-Loss Intervention Using Whole Metagenome Shotgun Sequencing. *PLoS ONE* 11(2): e0149564. doi:10.1371/journal.pone.0149564.
- 36) Freitag Luglio H., 2016. Genetic Variation of Fatty Acid Oxidation and Obesity, A Literature Review. *International Journal of Biomedical Science : IJBS* 12, 1–8.
- 37) Speakman J.R., 2015. The “Fat Mass and Obesity Related” (FTO) gene: Mechanisms of Impact on Obesity and Energy Balance. *Current Obesity Reports* 4, 73–91. doi:10.1007/s13679-015-0143-1.
- 38) Hsiao T.-J., Lin, E., 2016. Association of a common rs9939609 variant in the fat mass and obesity-associated (FTO) gene with obesity and metabolic phenotypes in a Taiwanese population: a replication study. *Journal of Genetics* 95, 595–601. doi:10.1007/s12041-016-0671-679.