

EL MICROBIOMA HUMANO: UN CATÁLOGO DE CAPACIDADES INTEGRADO EN LA FISIOLOGÍA DEL ORGANISMO

César Nombela



Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia. Universidad Internacional Menéndez Pelayo y Departamento de Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense



II CURSO AVANZADO SOBRE

INMUNONUTRICIÓN

INSTITUTO DE ESPAÑA

REAL ACADEMIA NACIONAL
DE FARMACIA

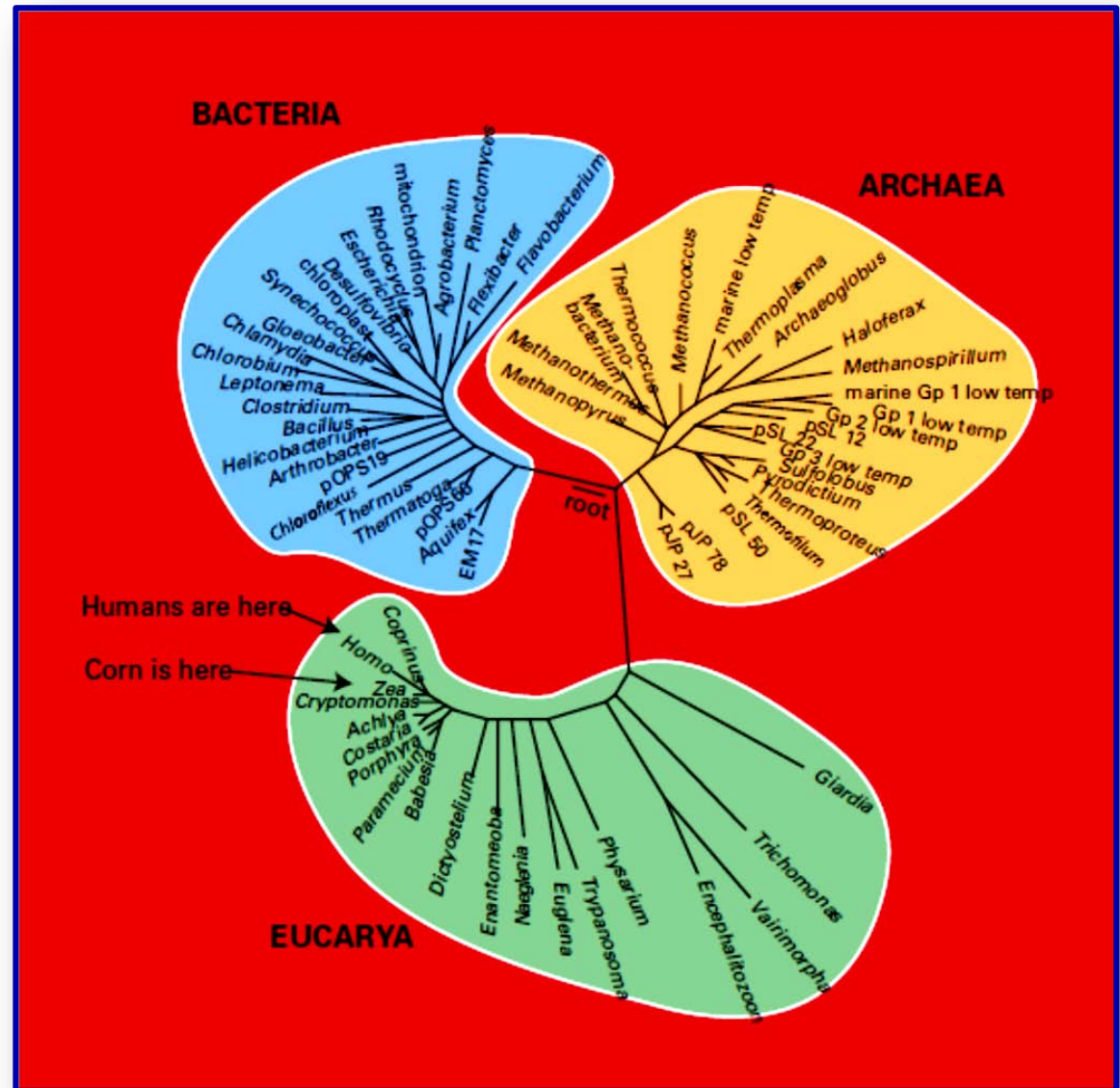
INTERNATIONAL SOCIETY
FOR
IMMUNONUTRITION

El Microbioma Humano. Un catálogo de capacidades integrado en la Fisiología del organismo

César Nombela Cano. Catedrático de Microbiología

7 Junio 2018

La biosfera es
mayoritariamente
microbiana



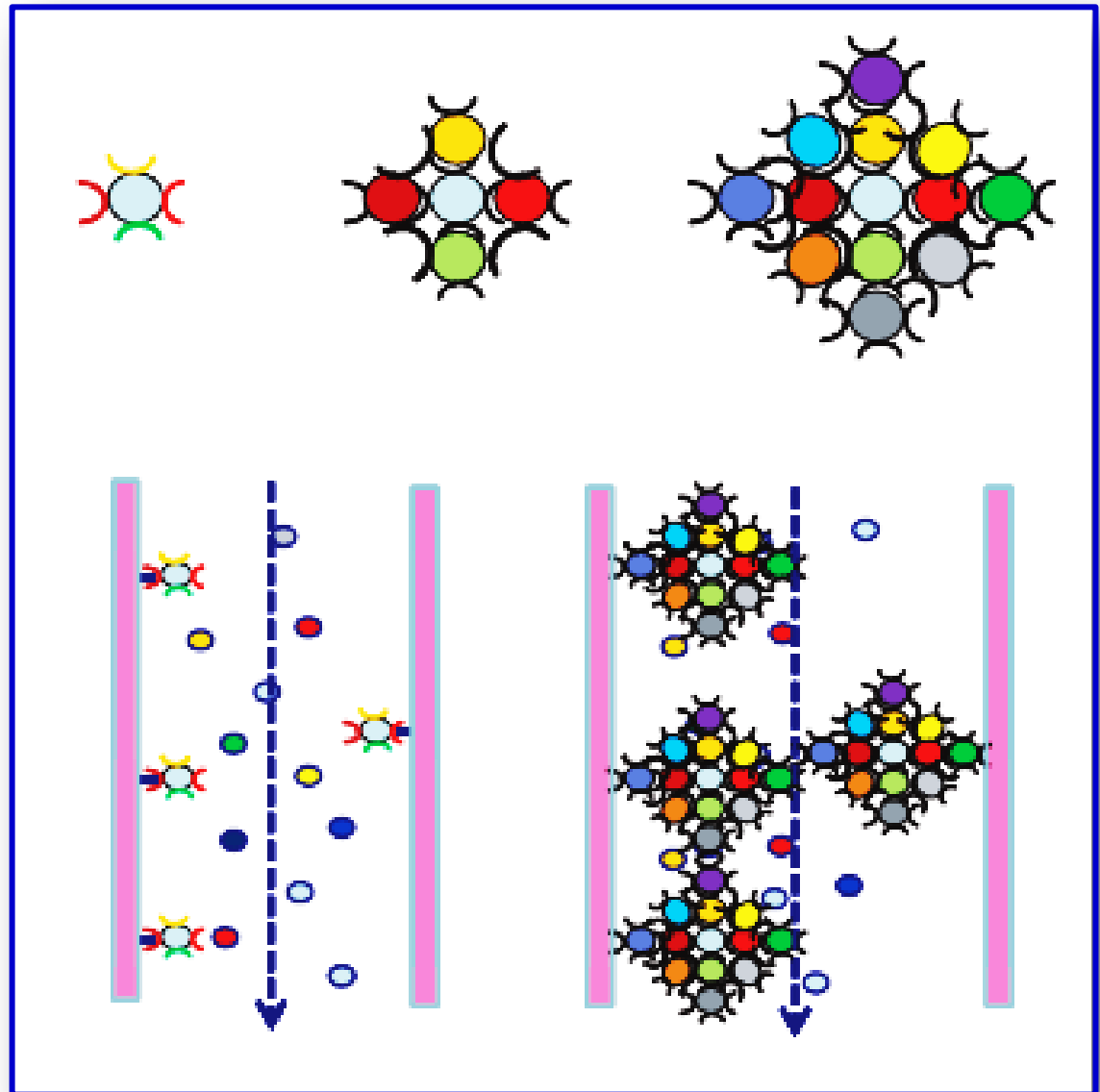
LA VIDA MICROBIANA: UNA PERSPECTIVA ACTUAL

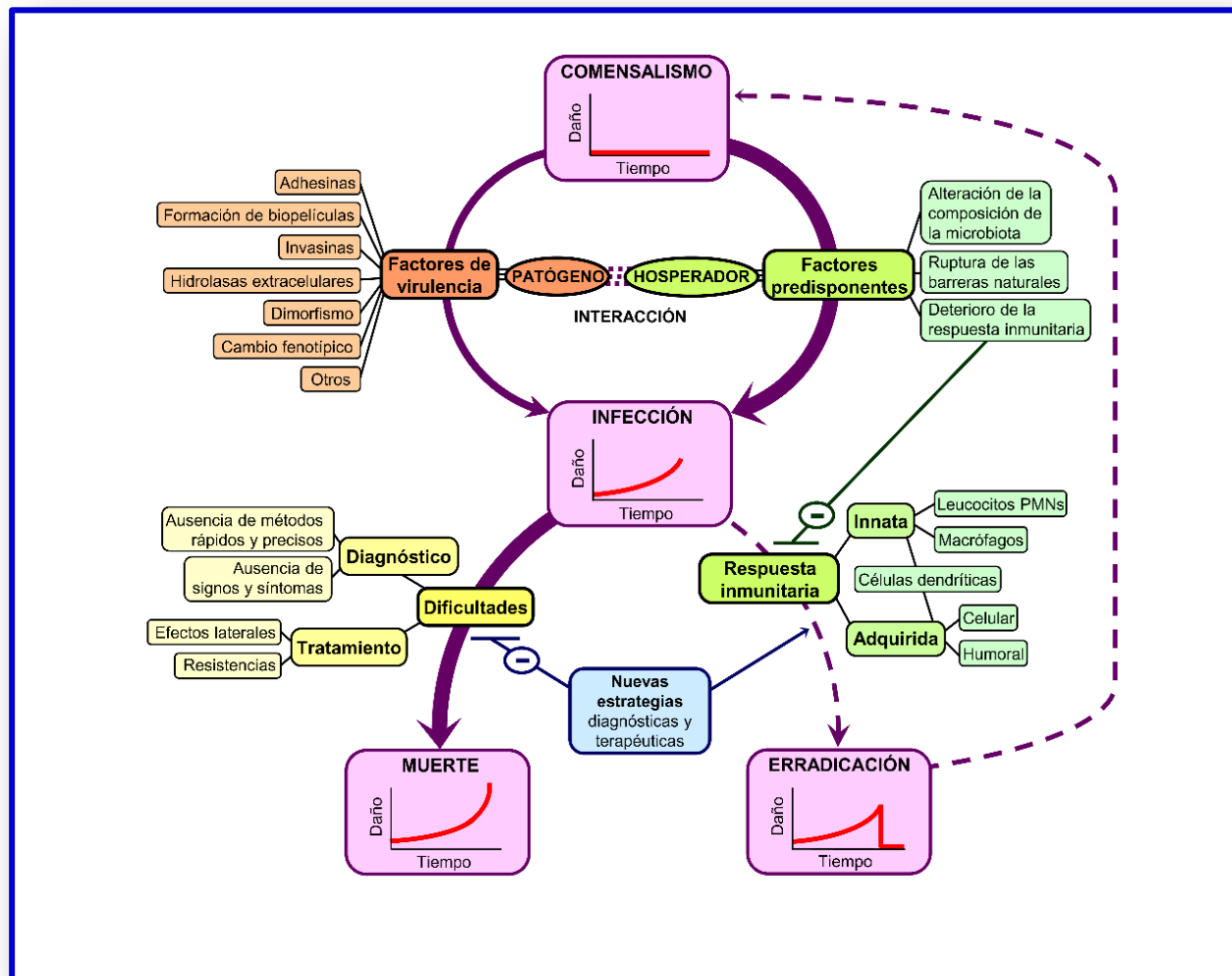
- Representa la inmensa mayoría de la biosfera.
- Conocemos unas 5000 especies procarióticas (bacterias y arqueas) pero podrían existir 10 millones.
- Extraordinaria capacidad de colonización de todo tipo de ambientes, incluido el organismo humano.
- La microbiota humana ha evolucionado junto con la especie. 
- Significativa evolución del concepto de patógeno.
- Notable relevancia de la actuación “colectiva” de los microbios unicelulares: biopelículas y escrutinio de quorum. 
- Importancia de la colonización microbiana de los animales, aunque no imprescindible para la vida animal (gnotobióticos)

MICROBIOMA HUMANO

- Microbioma y Microbiota
- ¿El último órgano de nuestro cuerpo?
- Cómo lo podemos conocer
- Cómo se desarrolla desde las primeras edades
- Implicaciones principales
 - Co-evolución con la especie humana
 - Fisiología. Equilibrios
 - Relación con estados patológicos
- Intervenciones: restauración, trasplante, etc.

GENERACIÓN
DE
CONSORCIOS
MICROBIANOS
COMO ORIGEN
DEL
MICROBIOMA
(UNA
HIPÓTESIS)





Equilibrios y rupturas en la microbiota comensal

A. Pitarch, C. Nombela y C. Gil

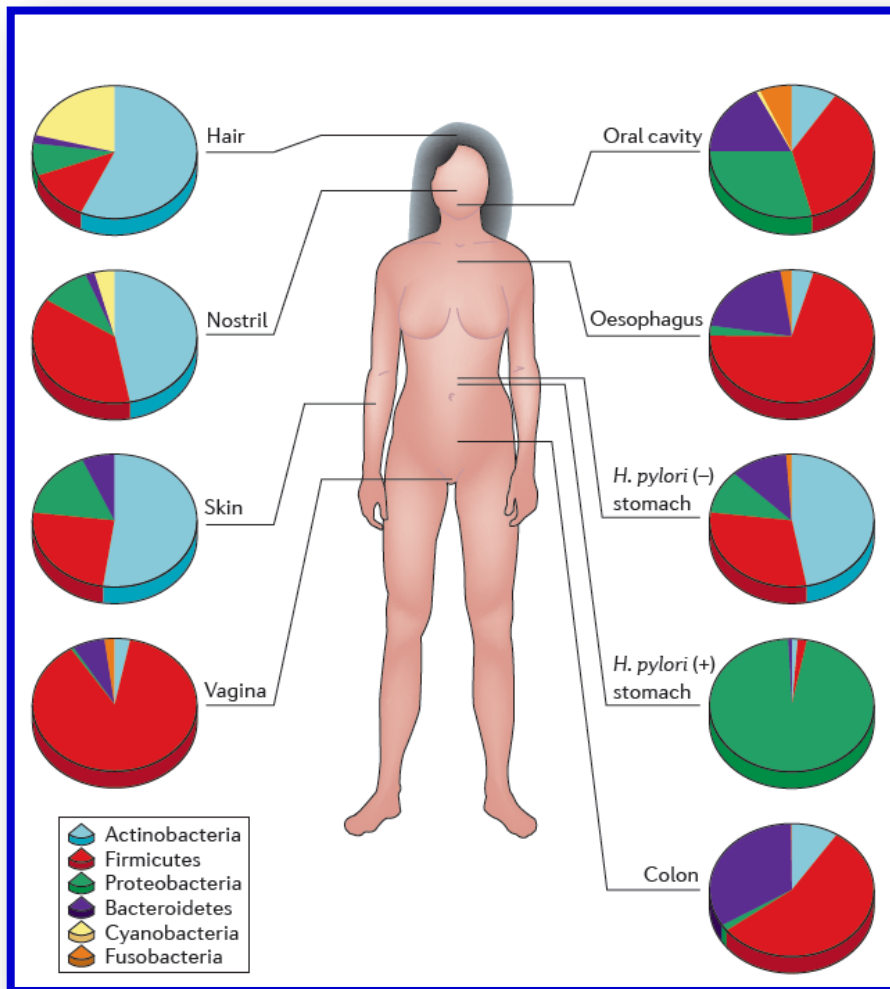
Tomado de Nombela, C. "Microbiota y Microbioma: ¿el último órgano del cuerpo humano?". Aula Farmacia Marzo-Abril 2018

El camino para avanzar:

- *Integrar los datos descriptivos del microbioma humano:*
 - *Envergadura, diversidad, variabilidad. Individualización.*
 - *Funcionalidad.*
 - *Alteraciones.*
- *Utilización de modelos experimentales (fundamentalmente en ratón) para trasladar los datos a la Medicina humana.*
- *Derivar conocimiento para corregir alteraciones.*
 - *Transplante de microbiota*
 - *Probióticos y prebióticos*

¿CABE HABLAR DEL ÚLTIMO ÓRGANO DEL CUERPO?

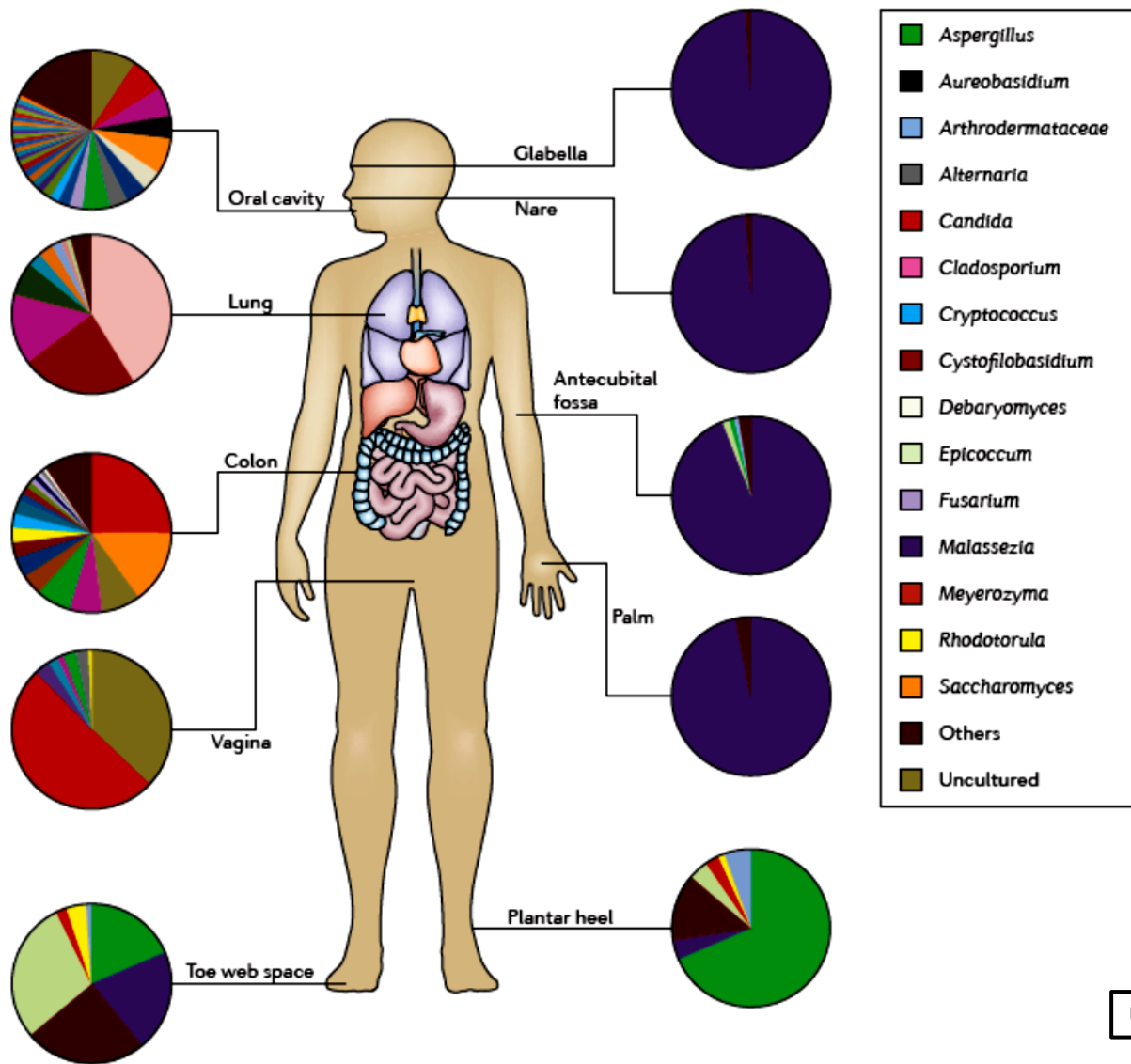
- El ser humano nace libre de microbios, pero es inmediatamente colonizado por un conjunto complejo de especies de microorganismos.
- Propuesta revisada: 10^{14} células (aprox. 2 Kg de peso) integran la microbiota humana, de 1 a 9 de cada 10 células de las que alberga nuestro organismo. Más exacto parece 39×10^{12} células microbianas, 30×10^{12} células propias. Proporción 1:1 aproximadamente
- Microbioma básicamente simbiote, integrado por especies mutualistas, comensales y, algunas, eventualmente patógenas (anfi-biosis).
- La colonización microbiana tras el nacimiento genera una microbiota humana caracterizada por su funcionalidad, más que la homogeneidad de su composición, alta variabilidad individual.
- Numerosas indicaciones de una co-evolución humanos-microbiota.
- La alteración de estos equilibrios se asocia a patología. El conocimiento desarrollado plantea la posibilidad de intervenciones que restablezcan la normalidad.



I. Cho y M.J. Blaser Nature Revs. Genetics 13, 260 (2012)

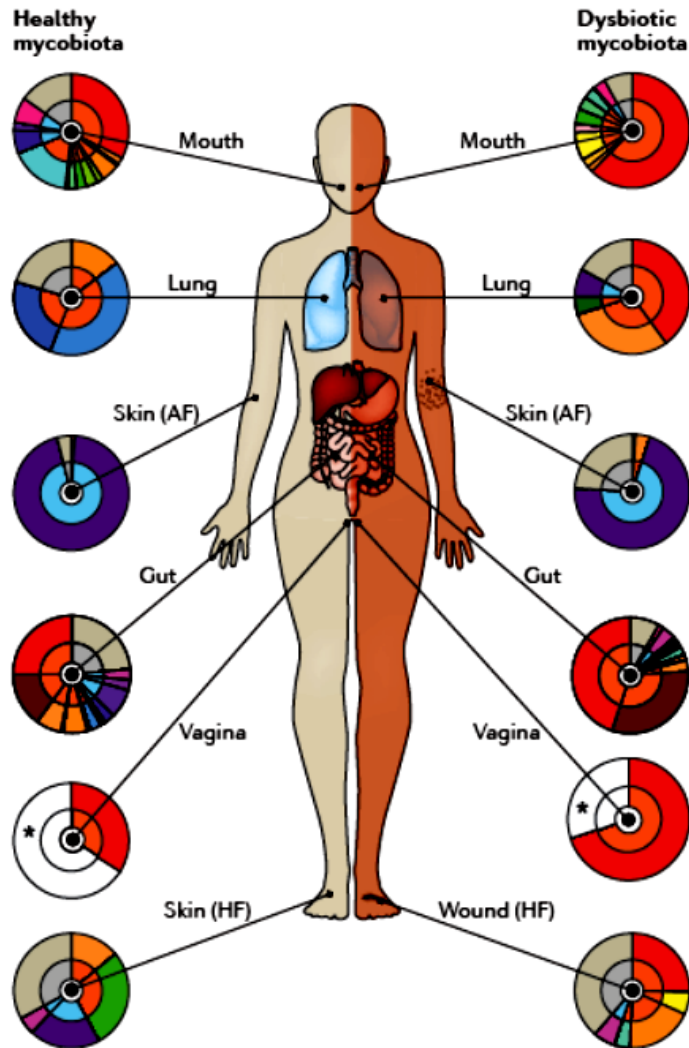
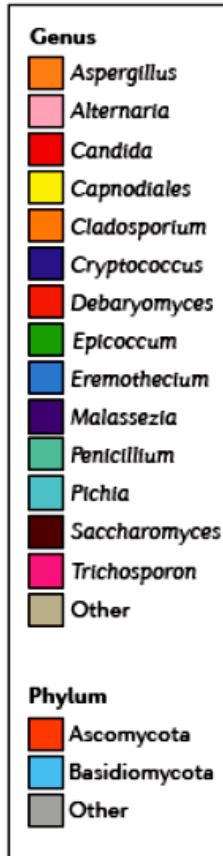
EL MICROBIOMA HUMANO Y SU VARIEDAD

- La composición de la microbiota de las distintas superficies y cavidades abiertas, un reflejo de las capacidades adaptativas de los microorganismos. Co-evolución, co-adaptación y co-dependencia.
- La dotación genética que supone el microbioma, un reflejo de capacidades metabólicas complementarias a las del organismo humano.
- La indudable contribución del microbioma (incluyendo viroma) a la maduración inmunitaria del organismo humano.
- Las bacterias integrantes representan en buena medida a la enorme variedad de procariotas existentes.



*Hablemos también de
MICROBIOMA*

a



b Factors contributing to dysbiosis

In the mouth, HIV-mediated immunodeficiency causes severe dysbiosis, which correlates with decreased numbers of CD4⁺ T cells

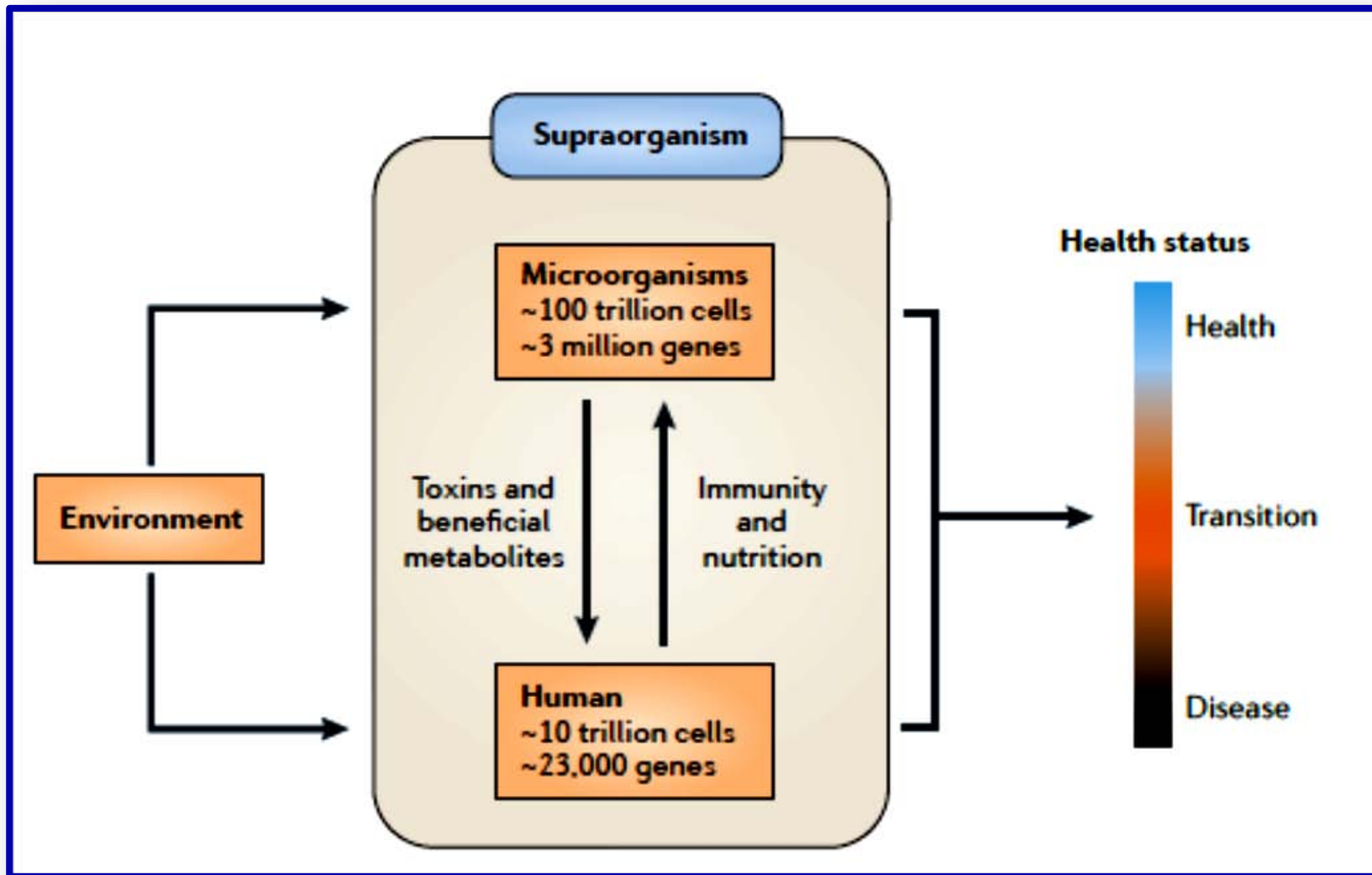
Cystic fibrosis causes severe physiological changes in the lung accompanied by the outgrowth of opportunistic pathogens. *Candida* spp. can adapt to escape *Pseudomonas aeruginosa*-mediated inhibition of the yeast-to-hypha transition

Primary immunodeficiencies that disrupt the T_H17 pathway, such as STAT3 mutation, lead to fungal dysbiosis

In the gut, dysbiosis is induced by antibiotic-mediated depletion of bacteria, genetic defects in antifungal immunity pathways, changes in diet, antifungal drugs and inflammation

Several factors can lead to increased growth of *Candida* spp. in the vagina, including glycogen and oestrogen produced during pregnancy, HIV-mediated immunodeficiency and depletion of lactobacilli

Temporally stable dysbiotic fungal communities occupy chronic wounds and can interfere with the skin-healing process



El supraorganismo humano. 20.000 genes humanos, 3 millones de genes microbianos

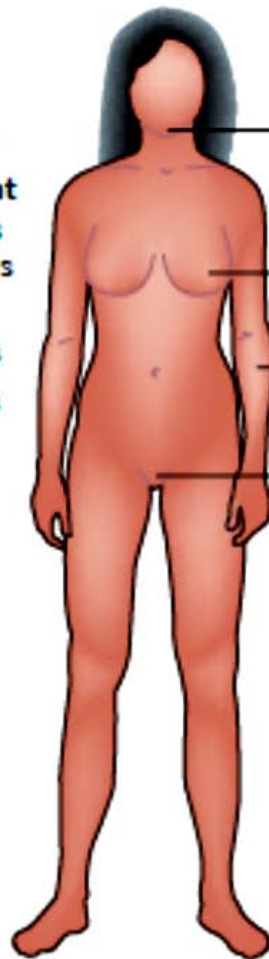
Effect of maternal exposures

Environment

- Antisepsis
- Antibiotics
- Diet

Other hosts

Epigenetics



Oral
(pre-mastication of food)

Mammary. through breastfeeding
(selection)

Cutaneous
(contact with skin)

Vaginal
(passage through birth canal)

Dental
amalgam

Bottle feeding



Early/
extensive
bathing

Early-life
antibiotics

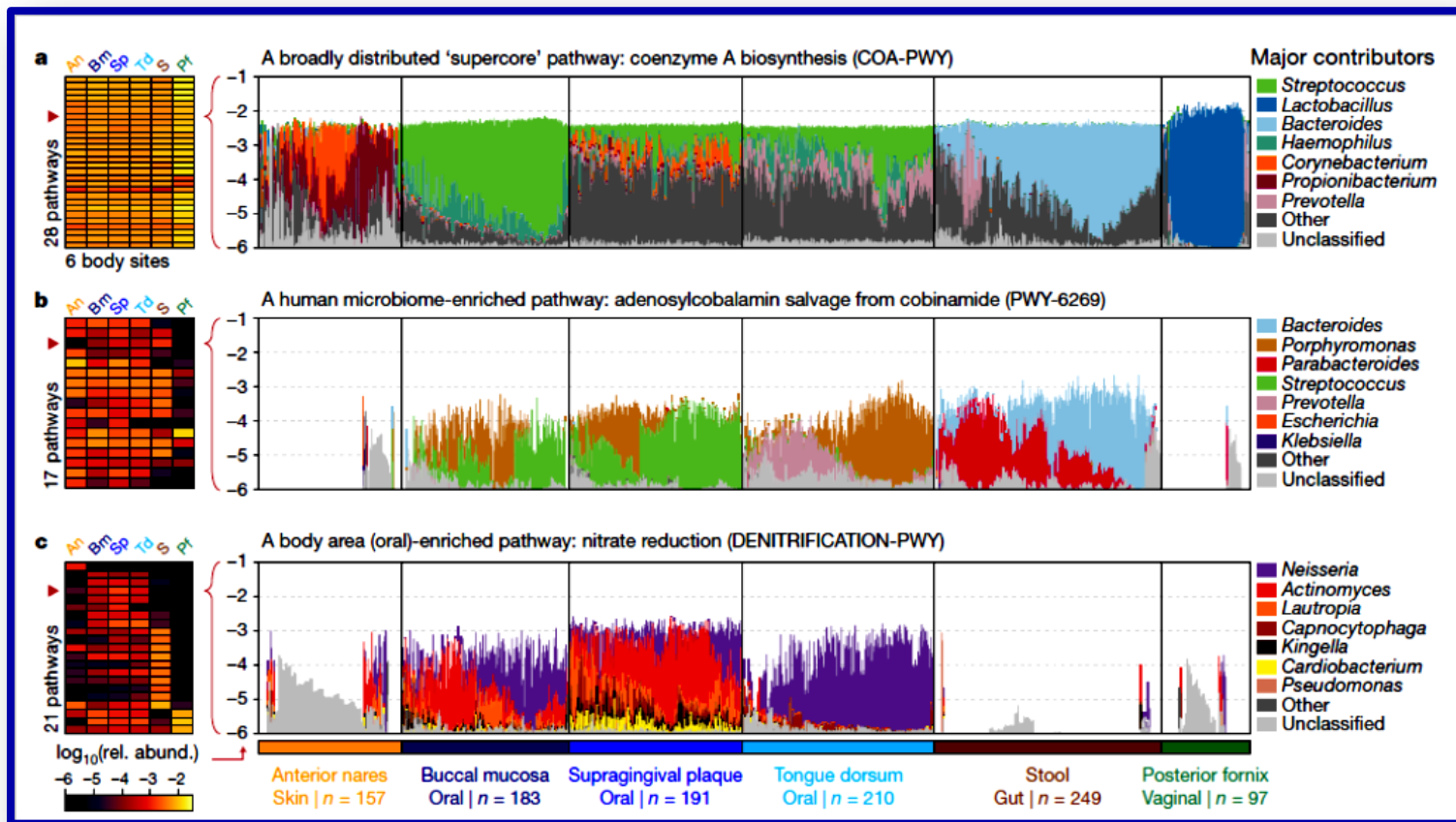
Caesarean section

- La colonización microbiana inicial depende la forma en que tenga lugar el alumbramiento (parto vaginal, cesárea).
- Relevancia de la alimentación (lactancia materna, fórmula).
- Al cabo de un año la microbiota tiende a ser como la del adulto.



CATALOGANDO EL MICROBIOMA HUMANO

- Una de las primeras cohortes típicas analizadas consistió en 242 adultos sanos (129 hombres y 113 mujeres) de los que se obtuvieron 4788 muestras.
- Muestras obtenidas de la cavidad oral y orofaríngea (9), fosas nasales (1), piel (4), contenido intestinal (1) y vagina (3). Sometidas a secuenciación de RNA 16S. Representativas de las poblaciones bacterianas y sus capacidades.



CATALOGANDO EL MICROBIOMA HUMANO

- Un segundo bloque de estudios analizó 1631 nuevos metagenomas de 265 individuos. Nuevos procedimientos han permitido perfilar la especificidad microbiana individual y en localizaciones concretas.

CATALOGANDO EL MICROBIOMA INTESTINAL (I)

DESDE LOS GENES A LAS ESPECIES

- Metagenómica de muestras fecales de 124 individuos: 3,3 millones de genes microbianos, 150 veces más que los genes integrantes del genoma humano.
- Se estima que la inmensa mayoría son genes microbianos prevalentes en el tracto intestinal, y que representan la mayoría de estos genes prevalentes.
- - El 99% de los genes son bacterianos. La cohorte analizada alberga unas 1100 especies bacterianas, pero cada individuo es portador de unas 160 especies prevalentes, en general muy compartidas con otros.
- 57 especies bacterianas más abundantes encontradas en el 90% de los individuos. La proporción de cada una de ellas muy variable (12-2200 veces).
- La mayor abundancia relativa es de los phyla *Bacteroidetes* y *Firmicutes*.

CATALOGANDO EL MICROBIOMA INTESTINAL (II)

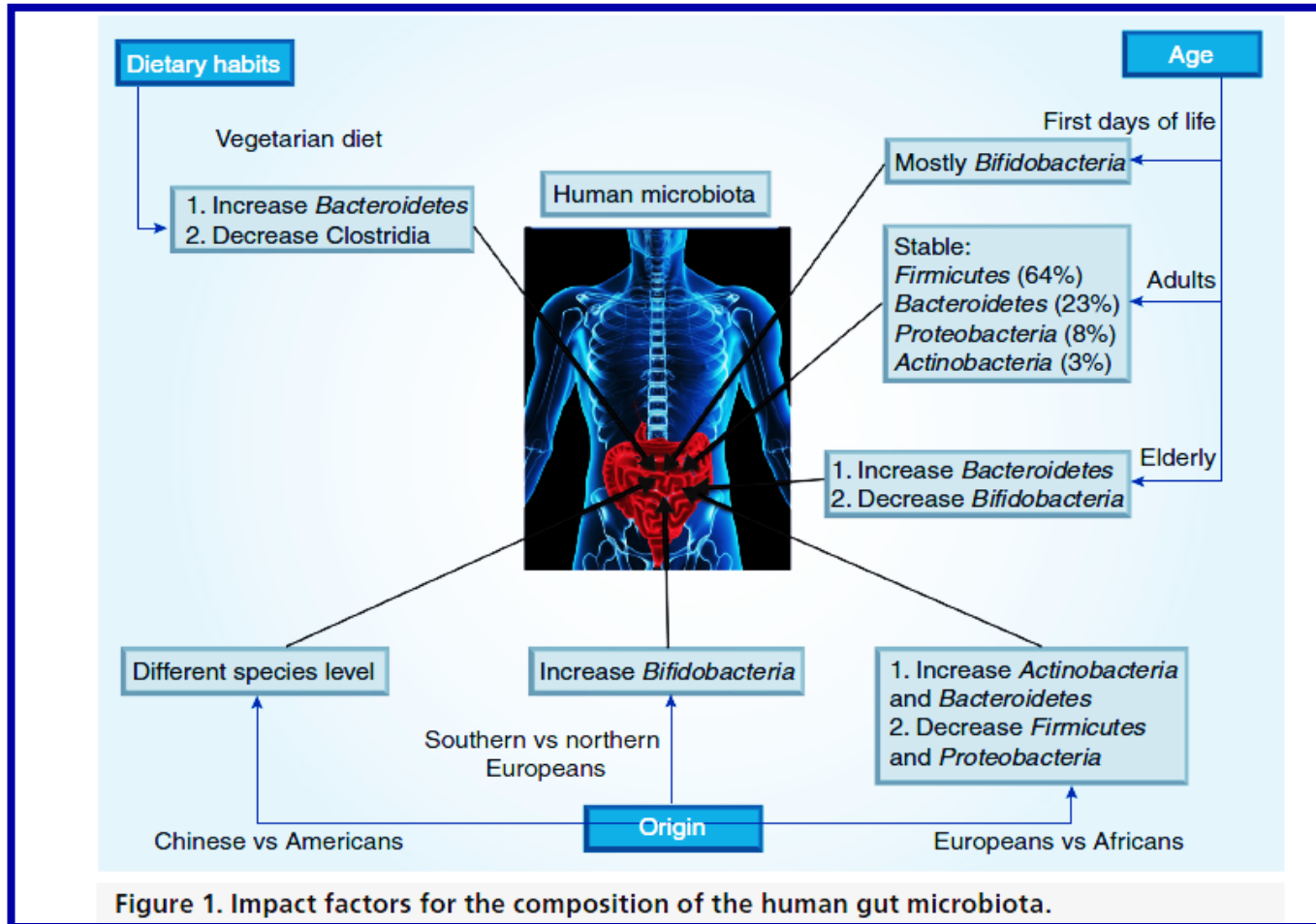
DESDE LOS GENES A LAS ESPECIES

- Las 57 especies prominentes se pueden agrupar en miembros del complejo *Bacteroidetes*, *Dorea/Eubacterium/Ruminococcus*, bifidobacterias, proteobacterias y estreptococos/lactobacilos.
- Hacia una visión funcional: genoma microbiano y metagenoma microbiano, un equilibrio integrado.
- Genoma microbiano mínimo: codifica funciones de crecimiento microbiano así como de supervivencia en el tracto intestinal de cada especie (adhesión a colágeno, fibrinógeno, fibronectina; captación de azúcares de glucolípidos complejos de plasma o células epiteliales).
- Metagenoma microbiano mínimo: codifica funciones necesarias para el conjunto de las especies intestinales de cada individuo. Entre ellas, metabolismo secundario, biodegradación y fermentación de azúcares y polisacáridos complejos presentes en la dieta (pectina, rhamnosa, sorbitol, manosa, fructosa, sacarosa, celulosa, etc.).

CATALOGANDO EL MICROBIOMA INTESTINAL (III)

DESDE LOS GENES A LAS ESPECIES Y SUS CAPACIDADES

- El microbioma humano complementario del genoma humano:
 - Genoma y metagenoma microbianos representan diversas funciones que no integran el genoma humano. Entre ellas:
 - Generación de energía a partir de algunos sustratos.
 - Aportación de ácidos de cadena corta, acetato (corazón, músculo, cerebro), propionato (gluconeogénesis hepática).
 - Los genes incluidos en el metagenoma microbiano aportan los pasos biosintéticos para diversos aminoácidos y vitaminas (biotina, vitamina K).
 - Degradación de xenobióticos (compuestos aromáticos incluyendo algunos halogenados, benzoato).
- La funcionalidad del microbioma intestinal se basa en la combinación de capacidades más que en una composición concreta de especies. 



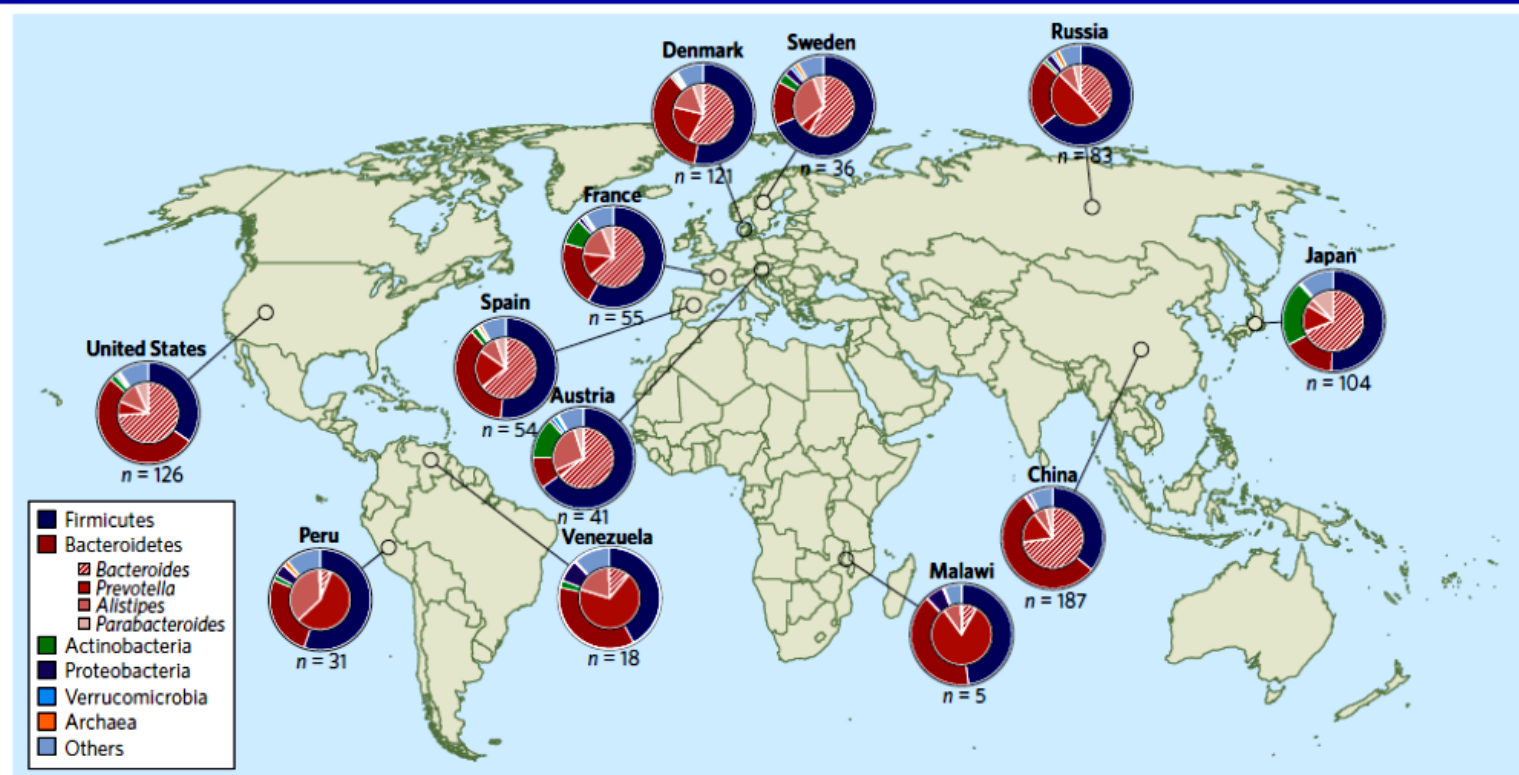
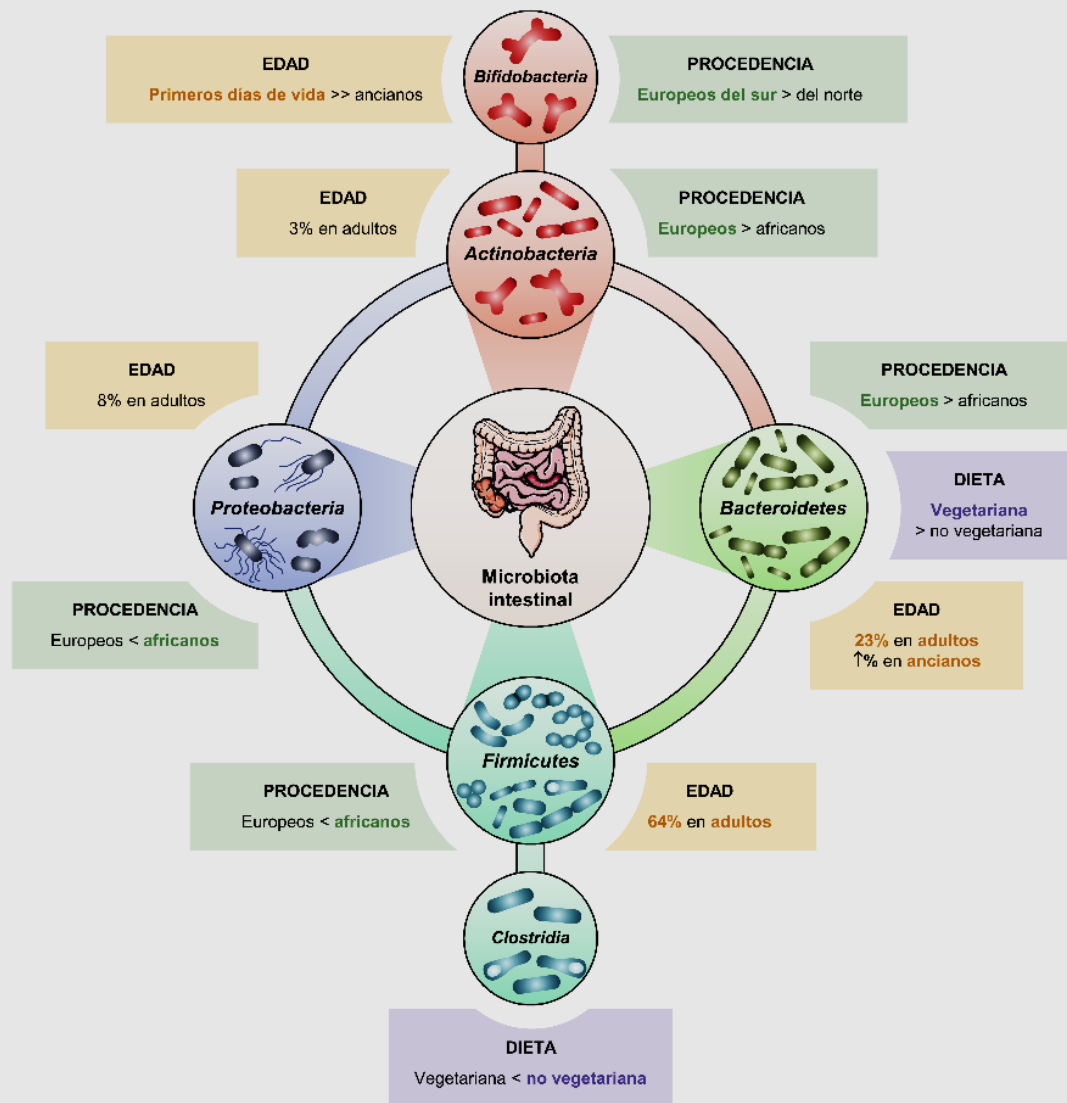
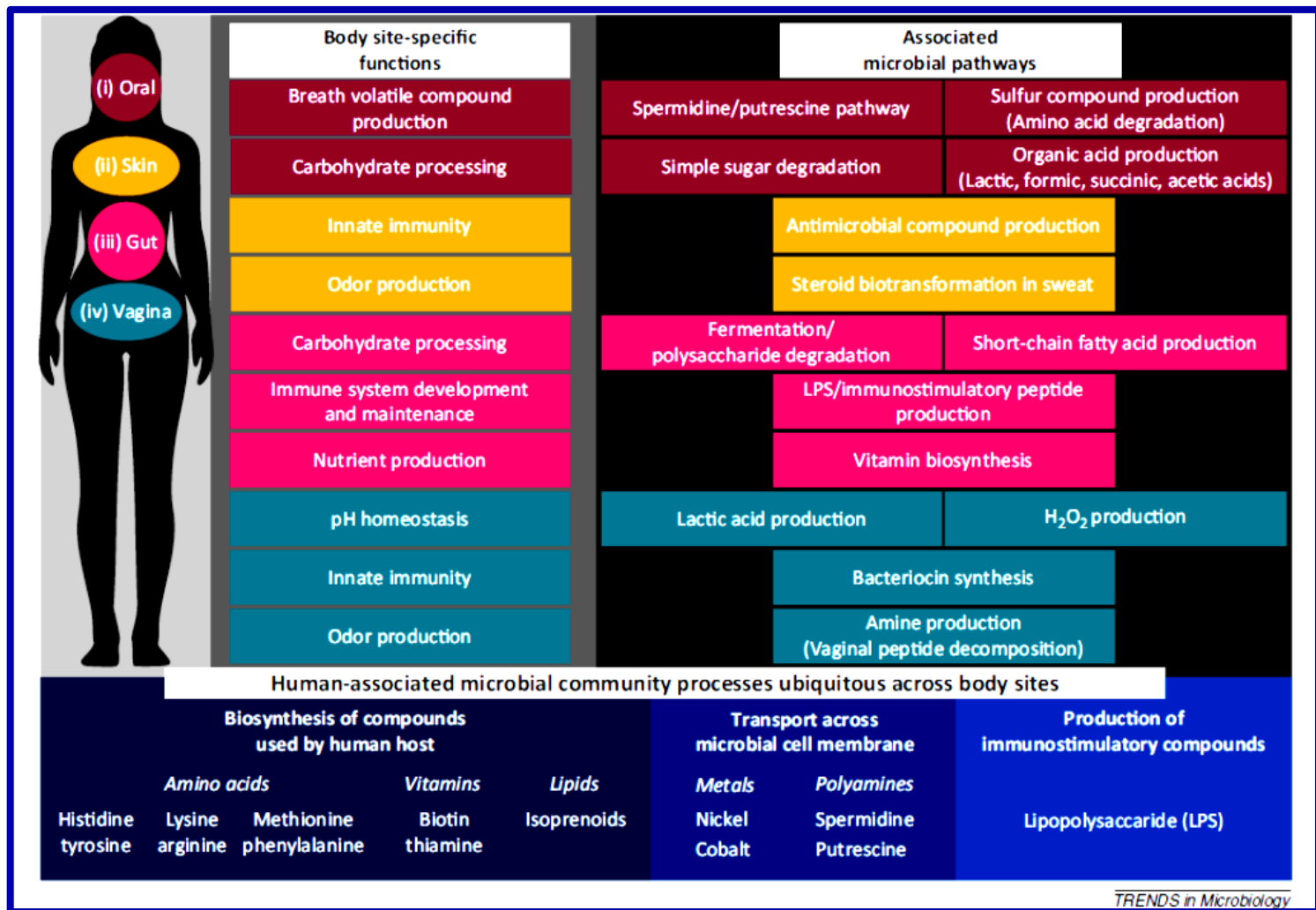
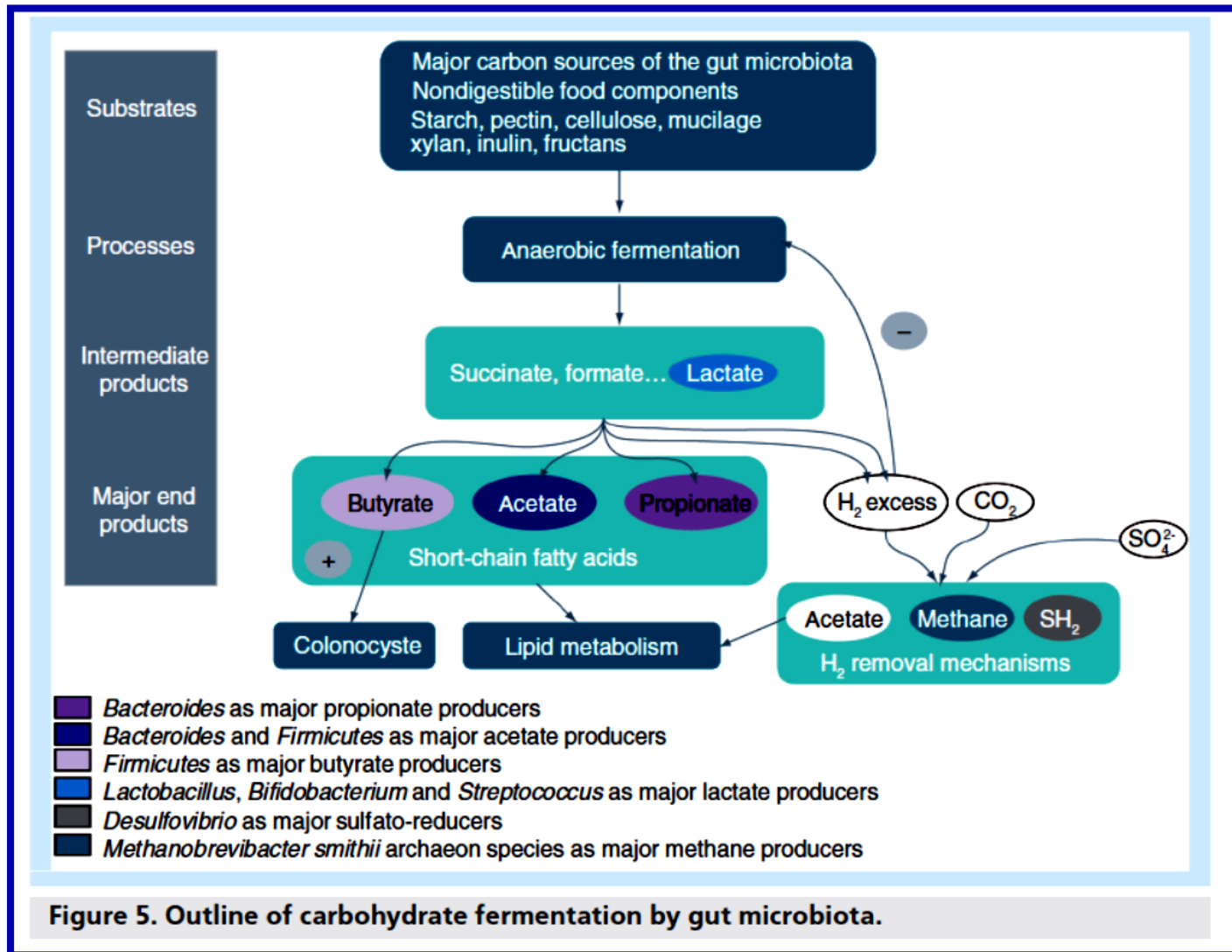


Figure 1 | Global distributions and abundances of human gut microorganisms at the phylum and genus levels. Of the gut microbial taxa represented among healthy adult human populations, the Gram-positive Firmicutes and the Gram-negative Bacteroidetes appear to be universal. While different microbiota can appear similar at the phylum level (for example, Sweden versus Russia), they often differ significantly at lower taxonomic levels. In this figure, each pie chart represents an average per cohort, with outer pies depicting phylum-level taxa and Archaea, and inner pies depicting genus-level taxa within Bacteroidetes. Inter-personal variation within each country is also significant. Data adapted from ref. 147.



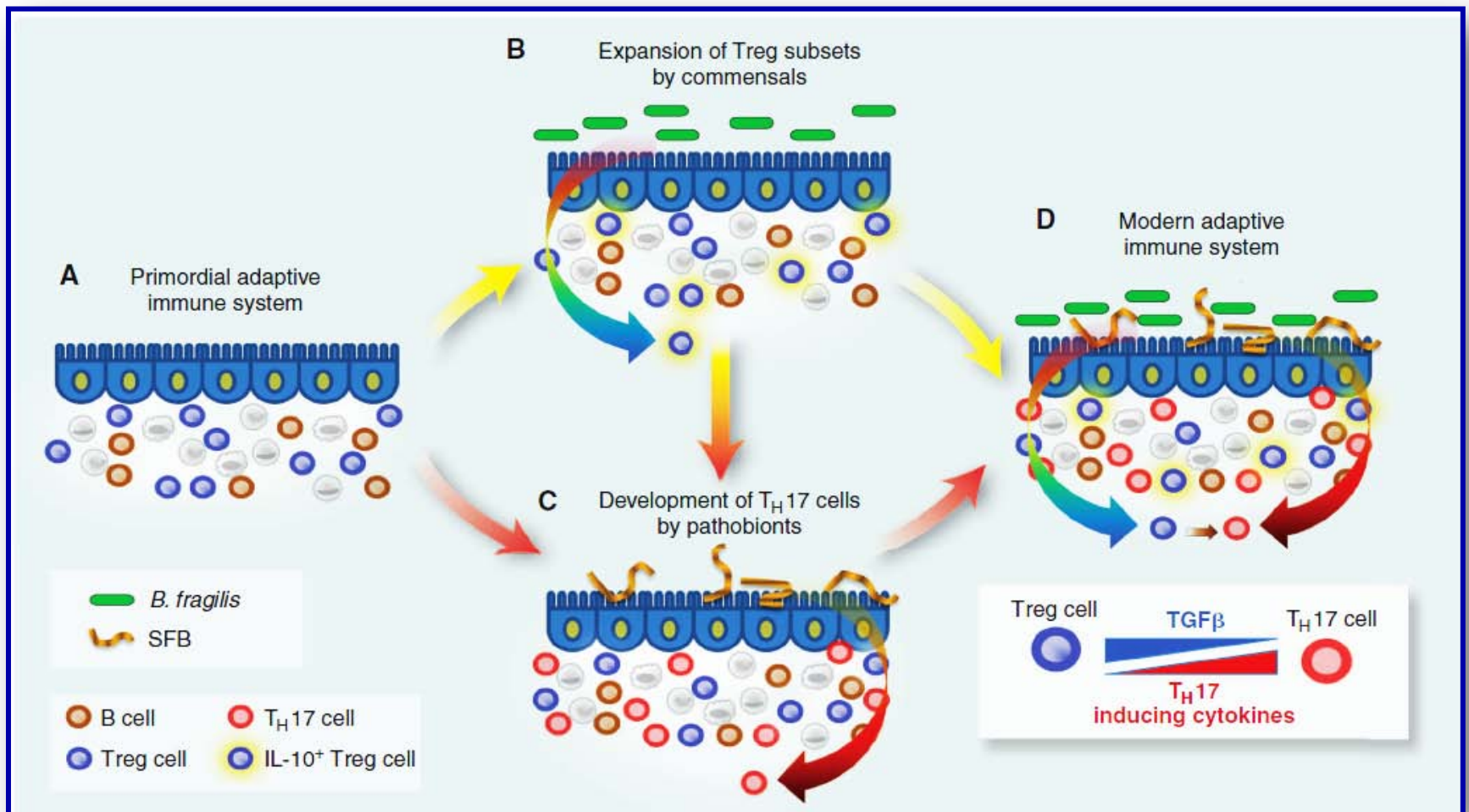


A Shafquat et al., Trends Microbiol. 22, 261 (2014)



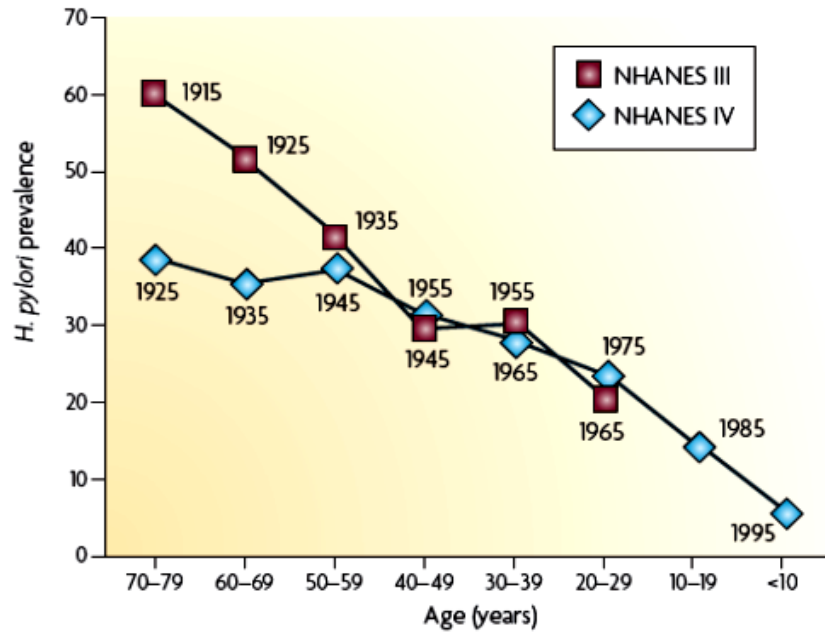
CO-EVOLUCIÓN MICROBIOTA-HUMANOS EN EL DESARROLLO DE LA INMUNIDAD

- La acusada inmadurez inmunitaria de los animales gnotobióticos se manifiesta especialmente en los tejidos linfoides del epitelio intestinal (receptores tipo Toll, expresión de HLA Clase II).
- Un equilibrio entre microbiota pro-inflamatoria (SFB) y anti-inflamatorias (*Bacteroides fragilis*) alterado en situaciones de disbiosis.
- Señales activadoras de la diferenciación de linfocitos T en diversas direcciones con el resultado de predominio T_H17 o T_{regs} y su papel en la defensa frente a patógenos.
- ¿Implicación de la microbiota en procesos no infecciosos autoinmunitarios?. Polisacárido A de *B. fragilis* previene la esclerosis múltiple en modelo murino (EAE). Efectos en artritis reumatoide y diabetes I.

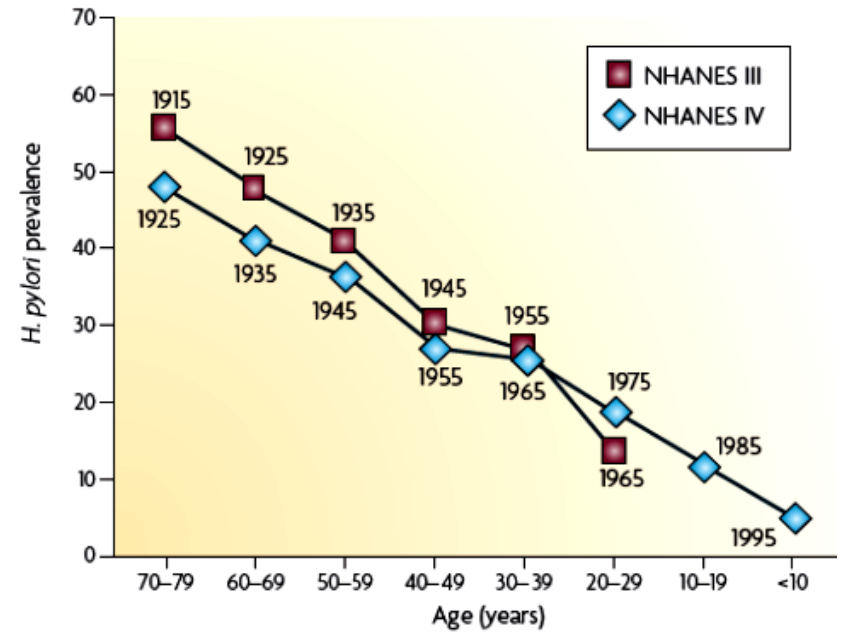


Co-evolución de la inmunidad adaptativa y la microbiota humana

a Males



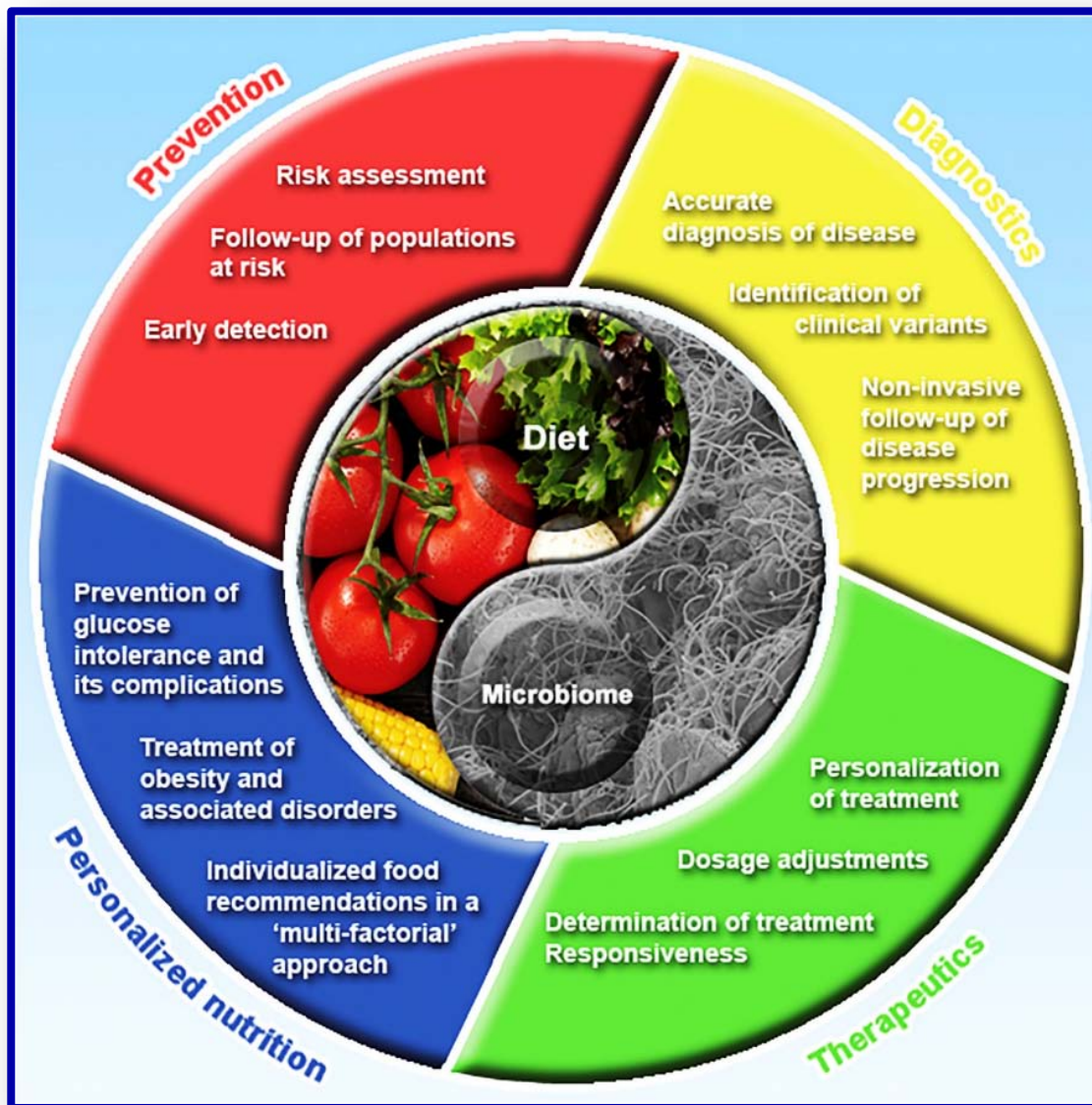
b Females



Prevalencia de *Helicobacter pylori* en Estados Unidos

MICROBIOTA: EQUILIBRIO ECOLÓGICO SUJETO A ALTERACIONES INDIVIDUALES Y DE ESPECIE

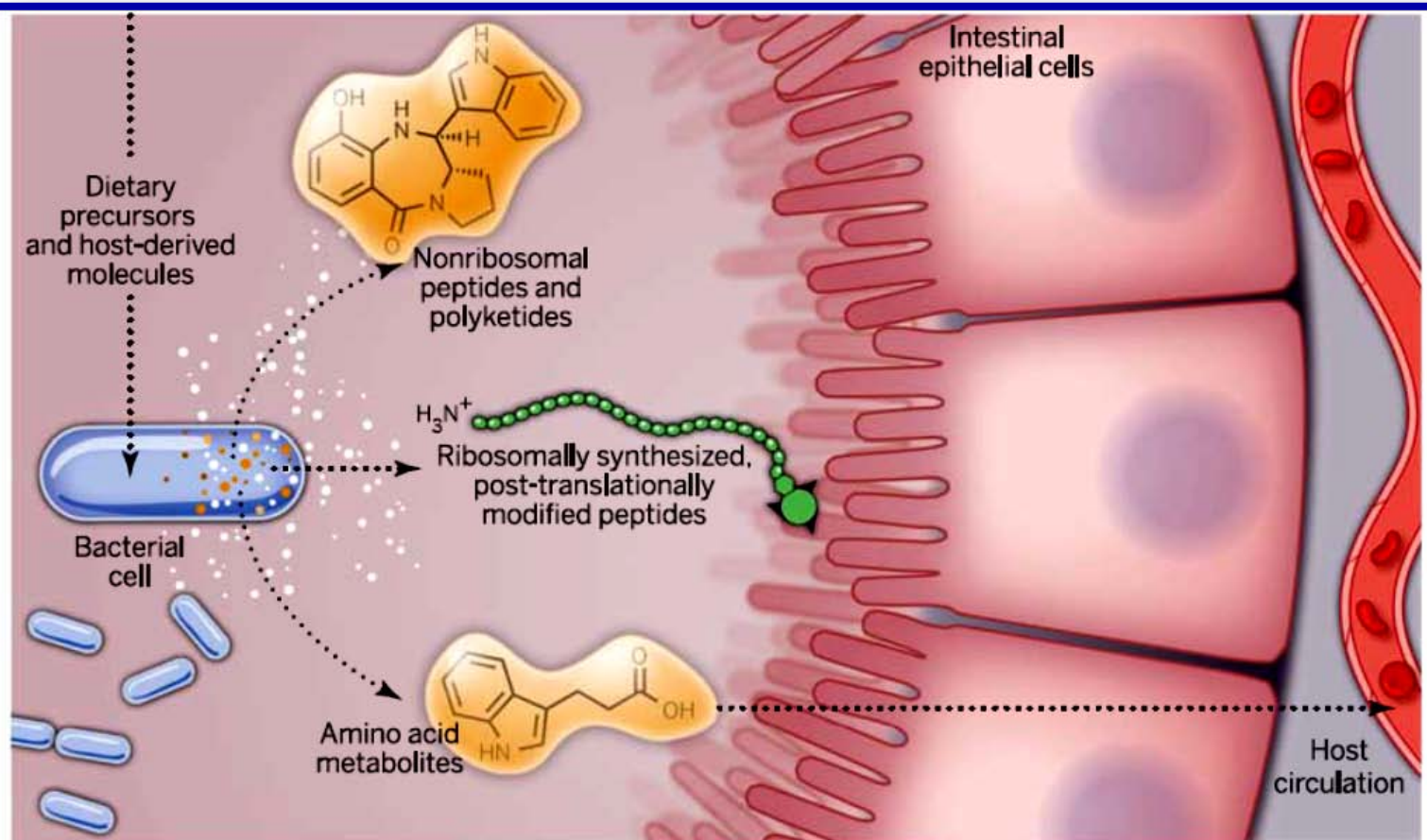
- Las modificaciones en la ecología humana y su impacto en la microbiota. Mejora condiciones sanitarias, aumento de partos por cesárea, disminución de lactancia materna, uso diverso de antibióticos, disminución del tamaño familiar, etc.
- Desaparición de una parte de la microbiota.
- Disminuye la colonización gástrica por *Helicobacter pylori* por los tratamientos erradicadores. ¿Positivo o negativo? Atrofia gástrica e hipoclorhidria, suponen menor riesgo de úlcera péptica y cáncer gástrico. Pero mayor reflujo esofágico (riesgo adenocarcinoma).
- *H. pylori* regula también niveles de hormonas como leptina o grelina ¿relación con la epidemia de obesidad y diabetes II?
- *H. pylori* activa también la población de linfocitos T y B gástricos ¿implicación en asma infantil y trastornos relacionados?



- El microbioma humano añade una nueva dimensión a la individualidad en la valoración del estado de salud y en el tratamiento de patologías.

El reto presente:

- *Integrar los datos descriptivos del microbioma humano en la funcionalidad del organismo y sus alteraciones patológicas.*
- *Derivar conocimiento para corregir alteraciones.*
- *Avanzar en la significación de modelos experimentales (fundamentalmente en ratón) para trasladar los datos a la medicina humana.*



Small-molecule-mediated microbe-host and microbe-microbe interactions. Commensal organisms of the human microbiota produce many diverse small molecules with an equally diverse array of targets that can exacerbate or modulate immune responses and other physiological functions in the host. Several act as antibacterials to remove competing organisms, but many other products have unknown targets and effects on commensals and the host.

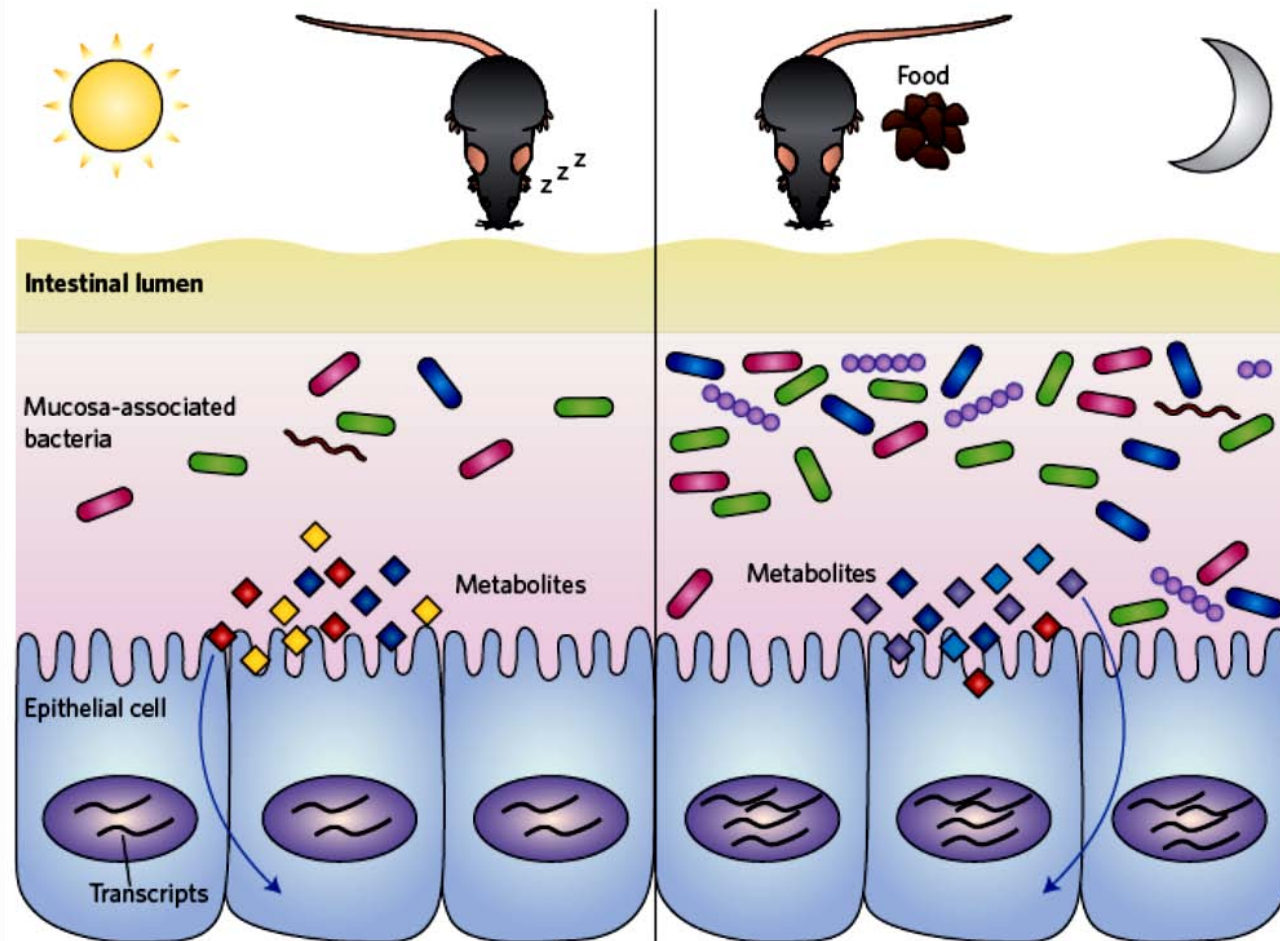
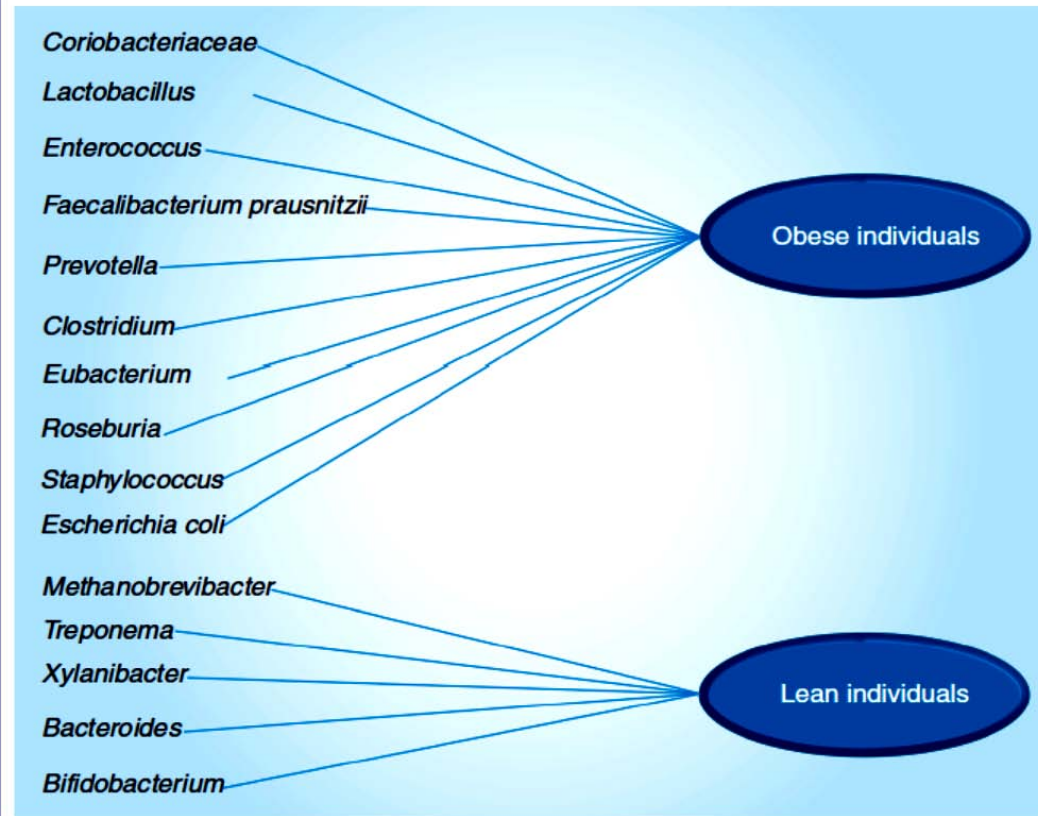


Figure 1 | Time-dependent feeding promotes rhythmic colonization of the host mucosal surface by gut bacteria, which in turn regulates circadian expression of many important genes in local gut tissue and distal organs, such as the liver.

- En el ratón, el ritmo circadiano determina una mayor colonización de la mucosa intestinal del hospedador durante la noche. La liberación de metabolitos microbianos a la circulación afecta a órganos distales como el hígado

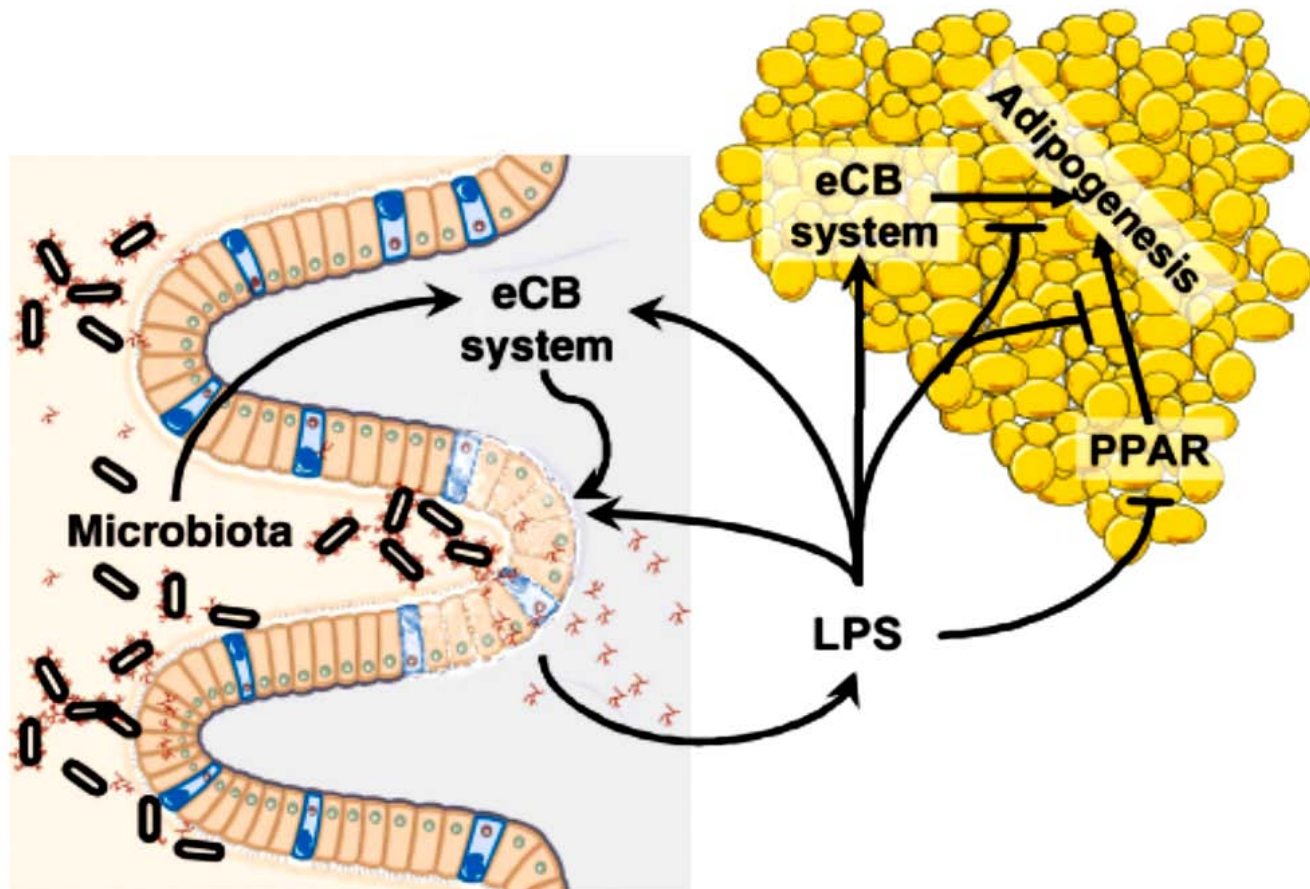
MICROBIOMA Y OBESIDAD: DATOS PARA ESTABLECER UNA POSIBLE RELACIÓN

- Microbiota intestinal: 10^{11-12} microorganismos por gramo de contenido intestinal. Población compleja que se configura desde el nacimiento.
- A los 1-2 años se produce una transición hacia microbiota propia del adulto.
- La situación geográfica y la dieta entre los factores que más contribuyen a la variabilidad.
- Meta-análisis de datos sobre composición de la microbiota intestinal y obesidad:
 - *Bacteroidetes*: No hay diferencias entre obesos y normales
 - En obesos disminuye la proporción de *Firmicutes*, *Bifidobacteria* y *Methanobrevibacter* spp.



Angelakis et al. Future Microbiology 7, 91 (2012)

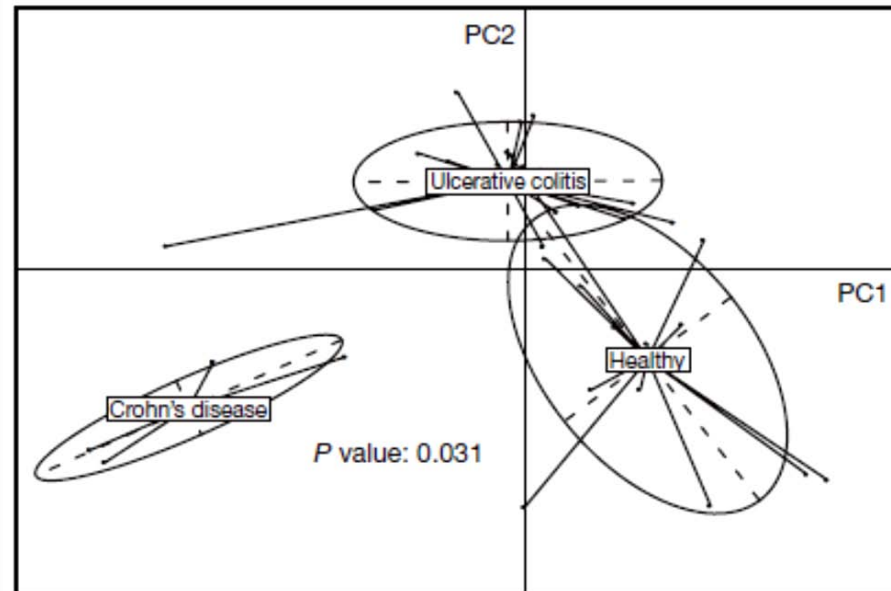
Figure 6. Population of bacteria found to increase in obese and lean individuals.



MICROBIOTA Y OBESIDAD

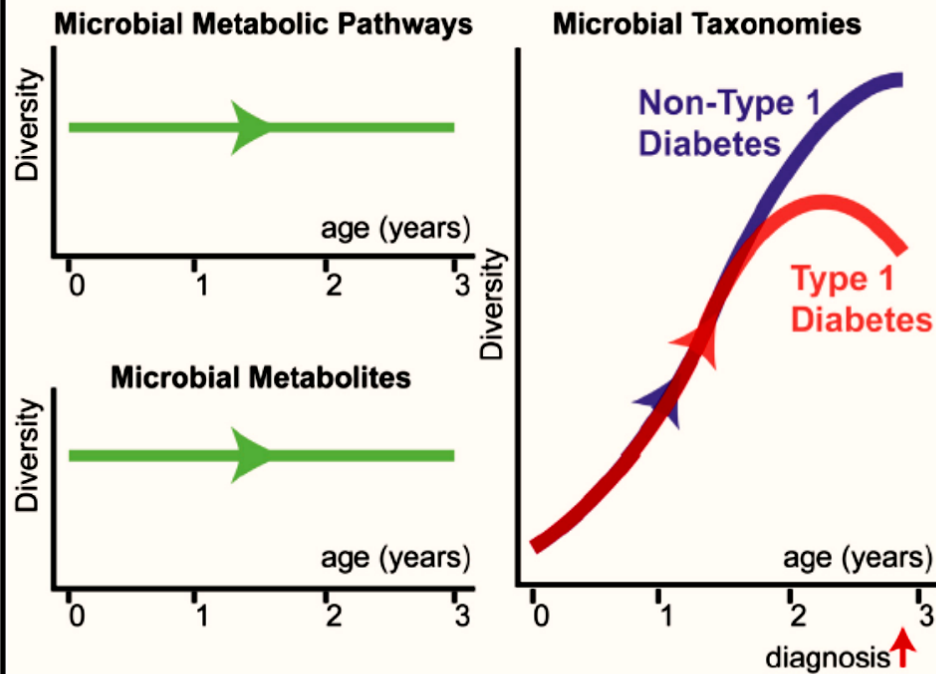
Alteraciones en la microbiota de obesos. Experimentación con ratones obesos y delgados permite postular la implicación de la microbiota en la regulación de adipogénesis a través del sistema endocannabinoide.

Modificaciones en el microbioma intestinal asociadas a patología: ¿causa o efecto?



La abundancia relativa de 156 especies permite diferenciar el microbioma asociado a colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn. Análisis de componente principal

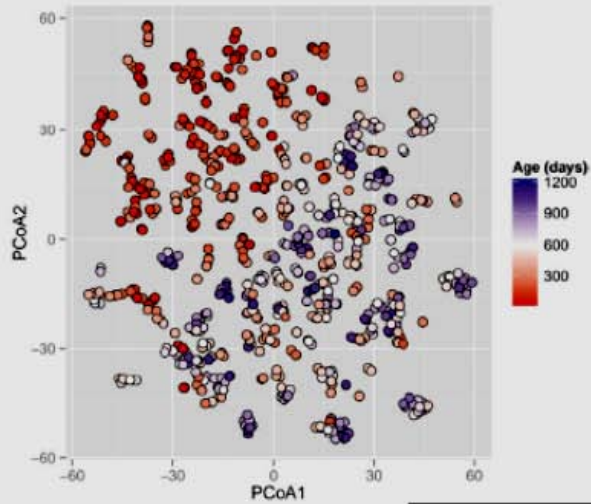
Longitudinal study of the development of the microbiome in infants



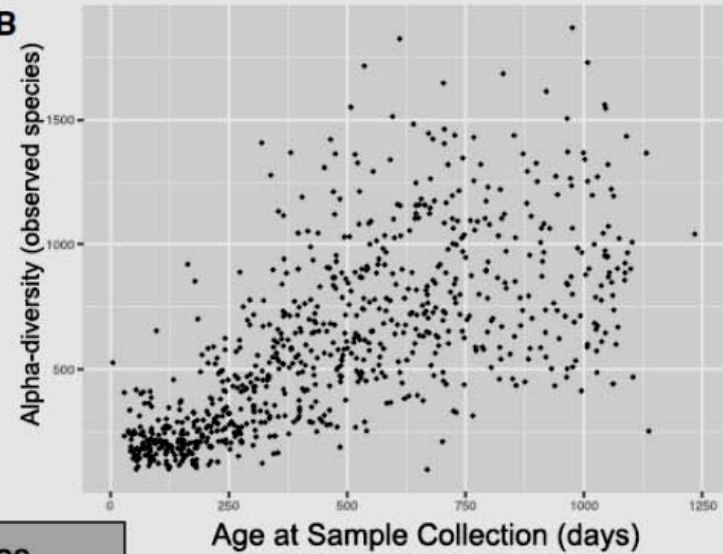
Kostic AD et al. Cell Host & Microbe
17, 260 (2015)

Taxonomies

A

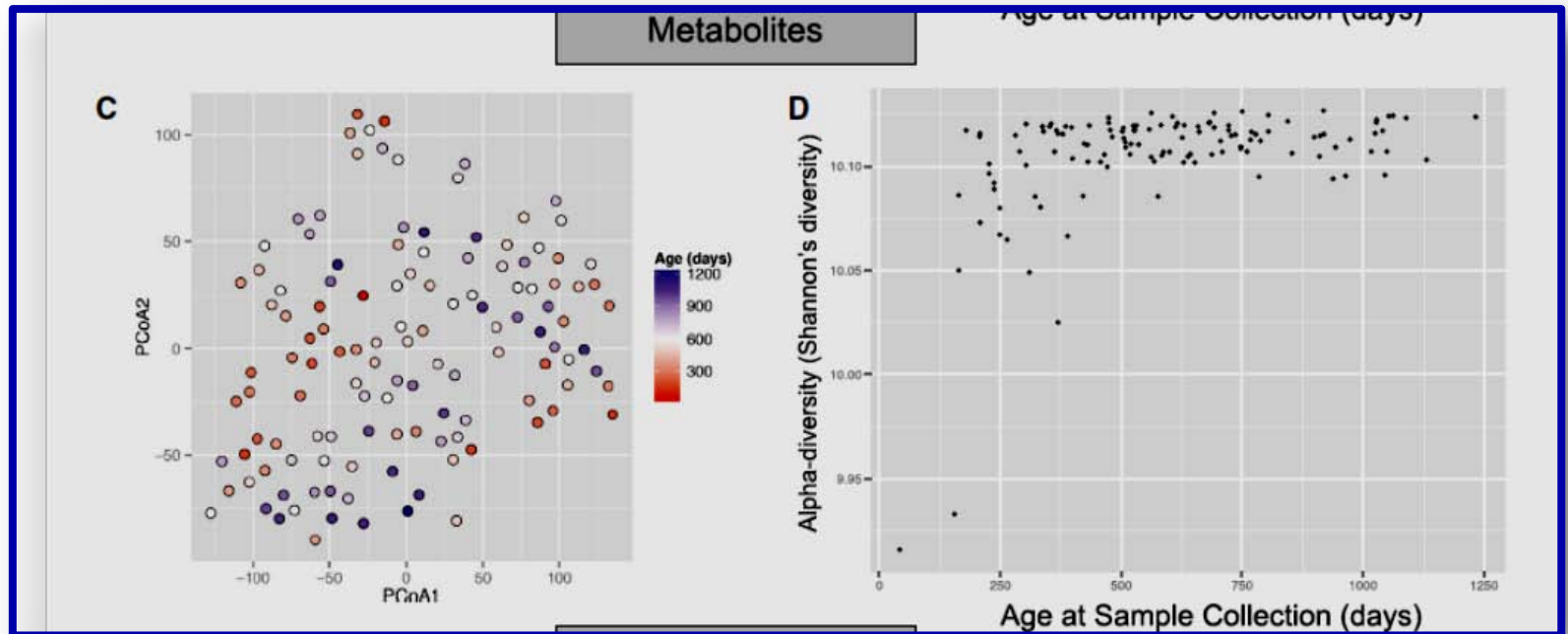


B



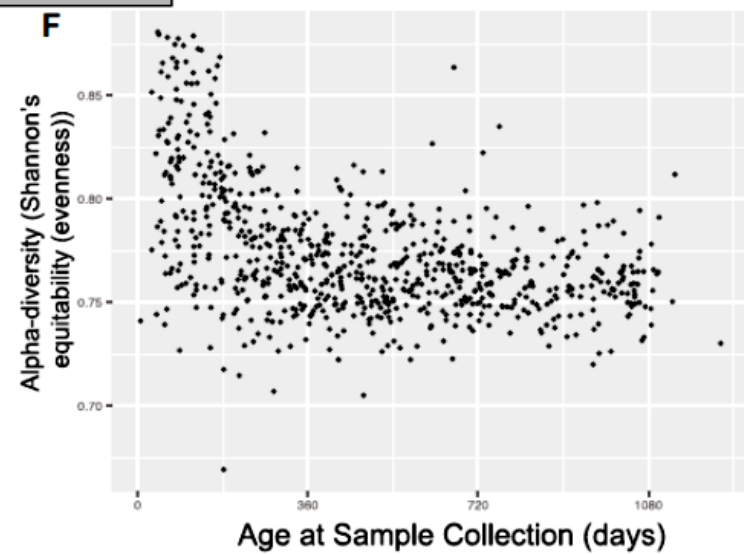
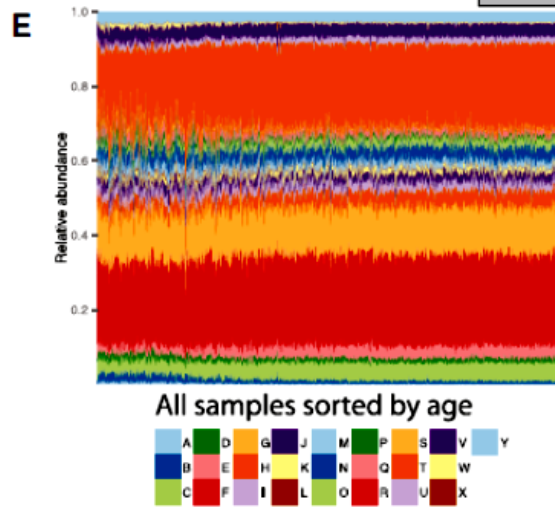
Metabolites

Kostic AD et al. Cell Host & Microbe
17, 260 (2015)

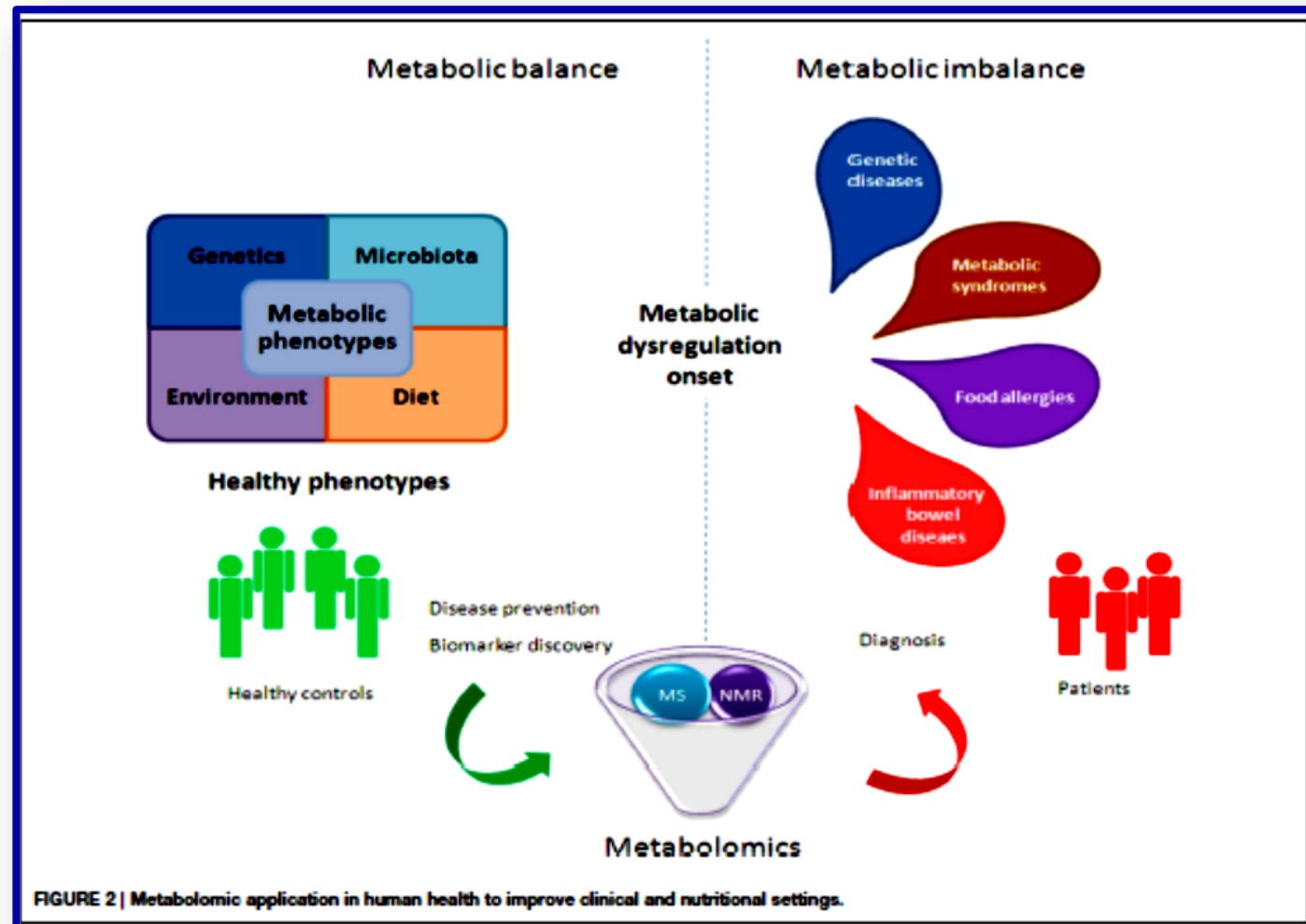


Kostic AD et al. Cell Host & Microbe
17, 260 (2015)

Metabolic Pathways

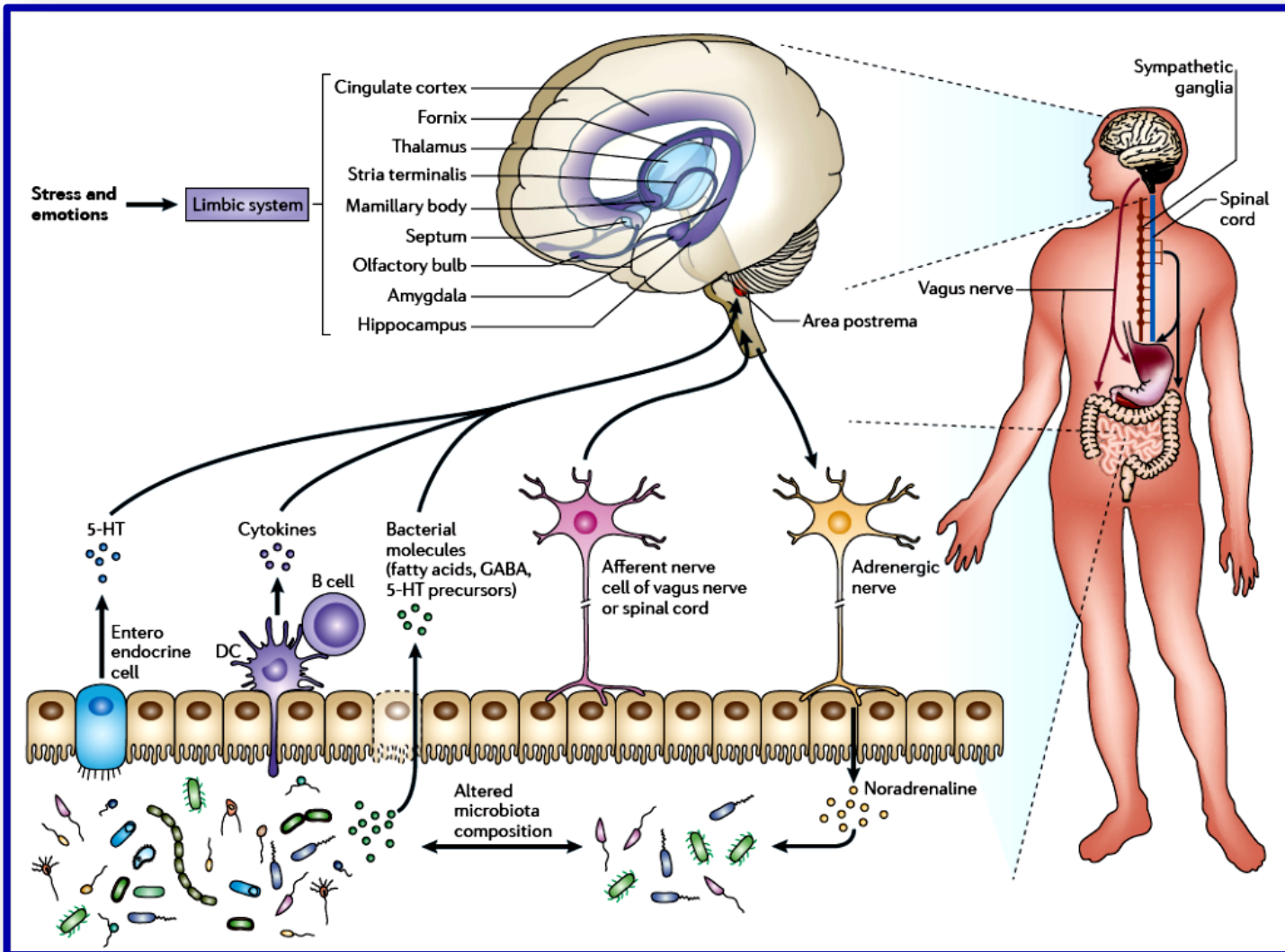


Kostic AD et al. Cell Host & Microbe
17, 260 (2015)



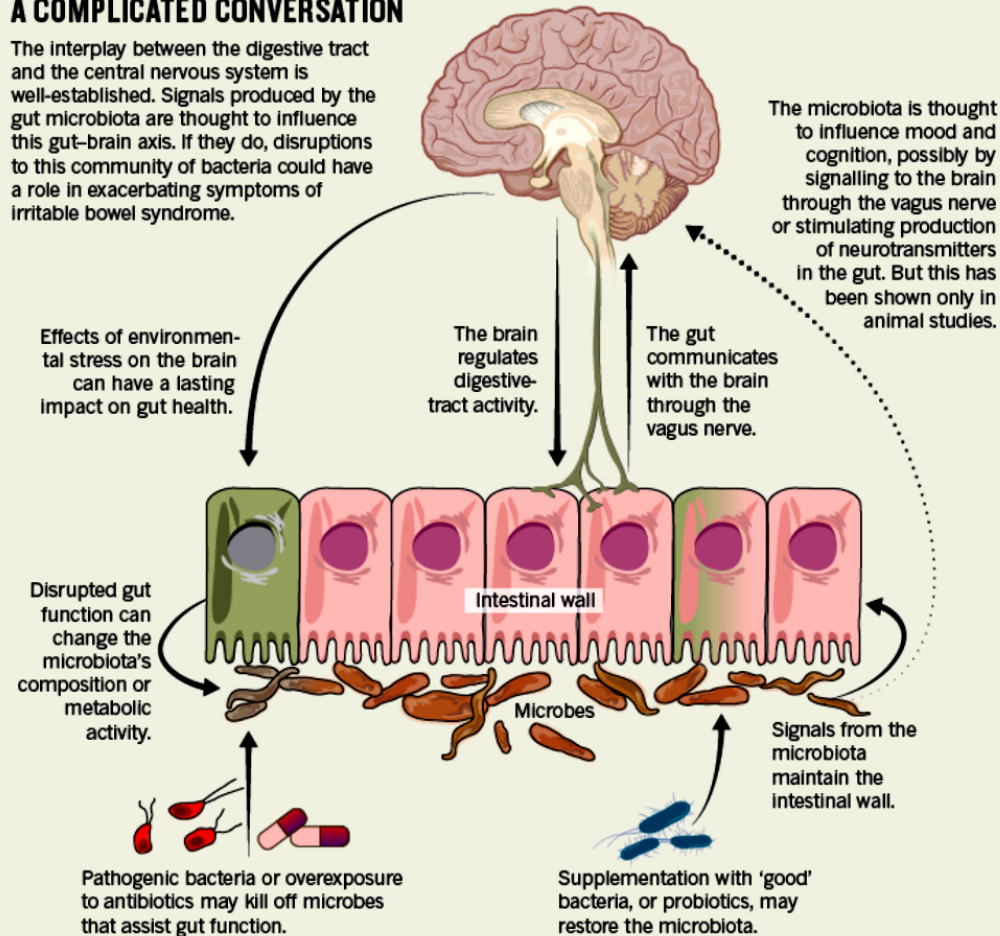
- Defectos en la barrera gastrointestinal y alteraciones en la microbiota en un modelo experimental de ratón repercuten dando lugar a síntomas de trastornos de espectro autista.
- En este modelo experimental se pudo apreciar que el tratamiento con *Bacteroides fragilis* modifica el microbioma paliando los síntomas tales como defectos de la comunicación y conductas basadas en ansiedad y alteraciones senso-motoras.
- Modificaciones en el contenido en metabolitos en suero serían la posibles causas de una alteración patológica de la conexión microbiota-cerebro, en el modelo murino experimental
- El empleo de probióticos para intervenir y desarrollar terapias en trastornos del desarrollo neurológico.

Collins SM, et al. Nat.
Rev. Microbiol. 10,
735 (2012)



A COMPLICATED CONVERSATION

The interplay between the digestive tract and the central nervous system is well-established. Signals produced by the gut microbiota are thought to influence this gut-brain axis. If they do, disruptions to this community of bacteria could have a role in exacerbating symptoms of irritable bowel syndrome.



- La relevancia de la conexión microbiota intestinal-SNC se pone de manifiesto en situaciones como el síndrome de colon irritable.
- Los datos de experimentación animal son incluso más demostrativos

Eisenstein, M. Nature 533, S104 (2016)

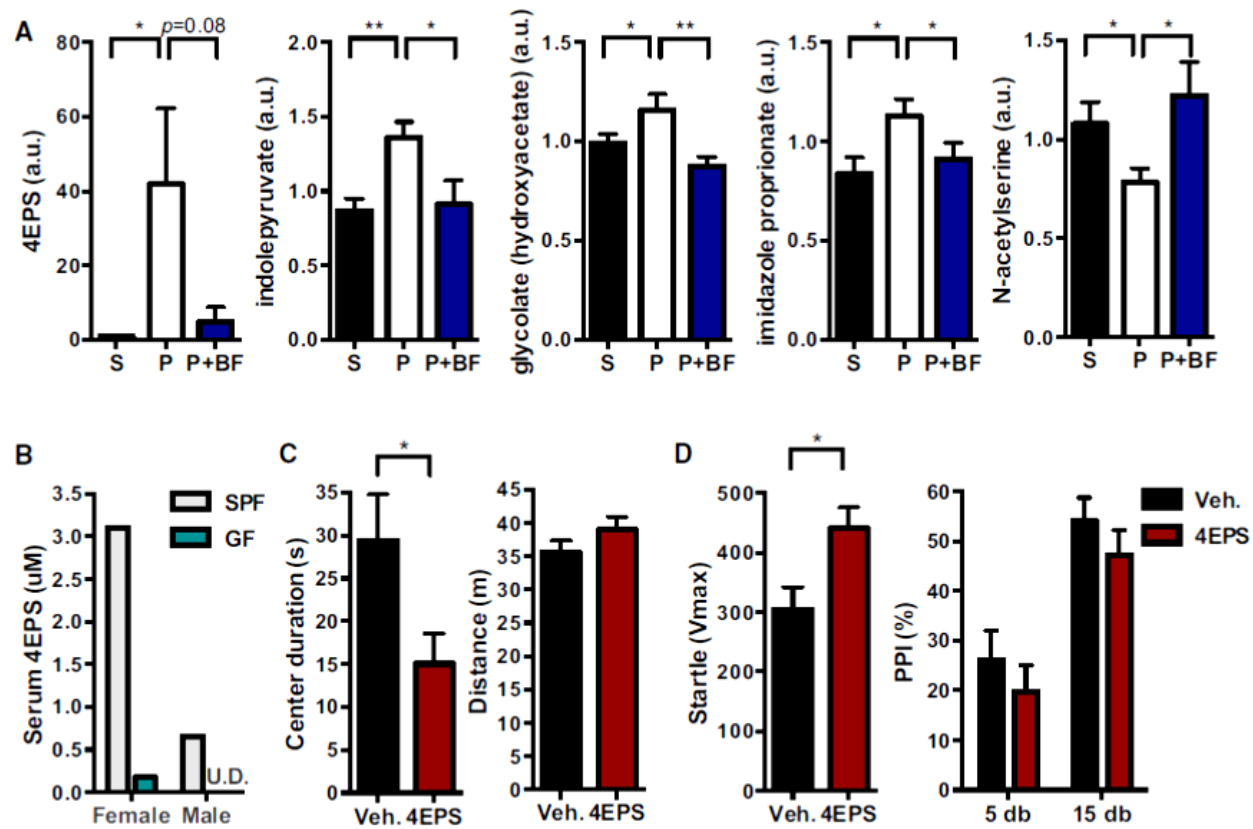


Figure 6. *B. fragilis* Treatment Corrects MIA-Mediated Changes in 4-ethylphenylsulfate, a Microbe-Dependent Metabolite that Induces Anxiety-like Behavior

¿TRASPLANTE DE MICROBIOTA?

- El papel relevante de la microbiota intestinal en la regulación inmunitaria y el metabolismo energético.
- Trasplante de microbiota fecal empleado con éxito en al tratamiento de infección recurrente por *Clostridium difficile*.
- Resultados prometedores en tratamiento de enfermedad inflamatoria intestinal y colon irritable.
- En exploración para el tratamiento de numerosas enfermedades no inflamatorias intestinales que tienen o pueden tener una base autoinmunitaria: Parkinson, autismo, esclerosis múltiple, síndrome de fatiga crónica, diabetes, obesidad, etc.

La
microbiota
como
agente
potencial
en
terapéutica

Table 1 Companies developing microbiota-based therapies

Company/organization	Therapy	Indication
OpenBiome	Banked processed stool from screened anonymous donors for FMT	<i>C. difficile</i> infection
Seres Health	SER-109 (orally delivered mixture of bacterial spores meant to mimic a healthy gut community)	Recurrent <i>C. difficile</i> infection
Coronado Biosciences	TSO (CNDO-201) (<i>Trichuris suis</i> ova, nonpathogenic helminth)	Plaque psoriasis, autism, Crohn's disease, multiple sclerosis
Osel	Lactin V (live biotherapeutic product, delivered intravaginally)	Bacterial vaginosis, recurrent UTI
Rebiotix (formerly MicroBex)	RBX2660 (five-microbe suspension, enema administration)	Recurrent <i>C. difficile</i> infection
Second Genome	SGM-1019 (small molecule against undisclosed target)	Inflammatory bowel disease
Symbiotic Health	Encapsulated fecal-derived bacteria	<i>C. difficile</i> -associated diarrhea
Vedanta/Janssen Biotech (J&J)	VE-202 (cocktail based on 17 commensal Clostridia species)	Allergic and inflammatory conditions
GT Biologics	Thetanix and Rosburix live biotherapeutic products (LBPs)	Pediatric Crohn's disease and ulcerative colitis
AvidBiotics	Avidocins, retargeted R-type bacteriosins as specific bactericidal agents	<i>C. difficile</i> -related diseases; <i>E. coli</i> -related UTI
Symbiotix Biotherapies, undisclosed pharma collaborator	Orally delivered PSA (polysaccharide A)	Autoimmune, allergic and inflammatory diseases
Second Genome/Janssen Biotech (J&J)	Microbial metabolites, gene products or small molecules against host targets	Inflammatory bowel disease
ActoGeniX	Genetically engineered bacterial delivery of targeted microbiome modulators	Colon cancer, <i>C. difficile</i> infection
Cleveland Clinic	Small-molecule inhibitors of bacterial TMA synthesis	Cardiovascular disease
Cipac Therapeutics	FMT encapsulation or reconstitution for fecal transplant	<i>C. difficile</i> infection, Crohn's disease
Enterome BioScience (Paris)	EP-8018 small-molecule antagonist of bacterial fimbrial adhesion	Crohn's disease

FMT, fecal microbiota transplantation; UTI, urinary tract infection; J&J, Johnson & Johnson.

Garber.
Nature
Biotechnolgy
33, 228
(2015)