

Microbioma intestinal, la importancia de un puñado de bacterias

Publicado por Patricia Alba Alderete

En el número del 13 de marzo de 2012 de la revista *The Scientist*, una revista de cotilleos de las ciencias biológicas, apareció un editorial que introduce un debate interesante: ¿es ético cambiar el microbioma de un ser humano? Esta duda surge porque el estudio del microbioma en los últimos años, gracias a las nuevas técnicas de biología molecular, ha experimentado un aumento cuantitativo y cualitativo lo que ha permitido extraer interesantes conclusiones y, sobre todo grandes expectativas.

Pero, ¿qué es el microbioma? Debido a lo novedoso del argumento, la definición cambia según el científico al que preguntemos. En su origen se creó como continuación del vocablo genoma. Por genoma se entiende el conjunto de la información genética (ADN) de un organismo y, por tanto, microbioma nació para nominar al conjunto de genomas de la microbiota o microorganismos que viven en cierto lugar. Pero con el tiempo, y los resultados obtenidos gracias al consorcio internacional para el estudio del microbioma humano iniciado en 2008, la definición se ha ampliado. De este modo, por microbioma se entiende el conjunto de los microorganismos, sus genomas y las interacciones ambientales de éstos con el ambiente en el que viven. En el microbioma humano se incluyen todos los microorganismos que habitan nuestra piel y mucosas, pero en las siguientes líneas nos centraremos en el microbioma intestinal.

El estudio del microbioma es “una vuelta de tuerca” al estudio de la denominada microbiota, microflora o flora normal. El objeto de estudio es el mismo, pero el desarrollo de técnicas de screening más avanzadas, como por ejemplo las nuevas técnicas de secuencia denominadas “Next Generation Sequencing”, han cambiado el modo de abordarlo. Antes se estudiaba el caso concreto, esperando que los datos siguieran siendo coherentes al extrapolarlos y poder así estudiar la realidad. Concretamente, en el estudio de la flora intestinal, los microbiólogos incuban muestras fecales, o con suerte intestinales, e identifican a los microorganismos que crecen “in vitro”, mediante metodología clásica (bioquímica) o ayudándose de la secuencia del gen que codifica para el ARN ribosómico 16S. Éste se ha demostrado muy útil en la identificación de procariontes pues en un fragmento de aproximadamente 1500 pares de bases encontramos regiones conservadas en todos los phylum procariontes y regiones muy variables, específicas de género e incluso de especie. Lo cual permite diseñar una PCR (reacción en cadena de la polimerasa, que copia un fragmento concreto de ADN en millares o millones de copias) común para todas las bacterias, pero que nos devolverá una secuencia específica para cada especie de microorganismo. El mayor inconveniente de esta técnica es el sesgo de la información obtenida, pues se calcula que sólo entre el 40-60% de los microorganismos que habitan en nuestro tracto intestinal crecen en cultivo. Las razones de esta inhibición son tan diversas como el número de especies que no son capaces de crecer, pero podrían resumirse en la falta de algún

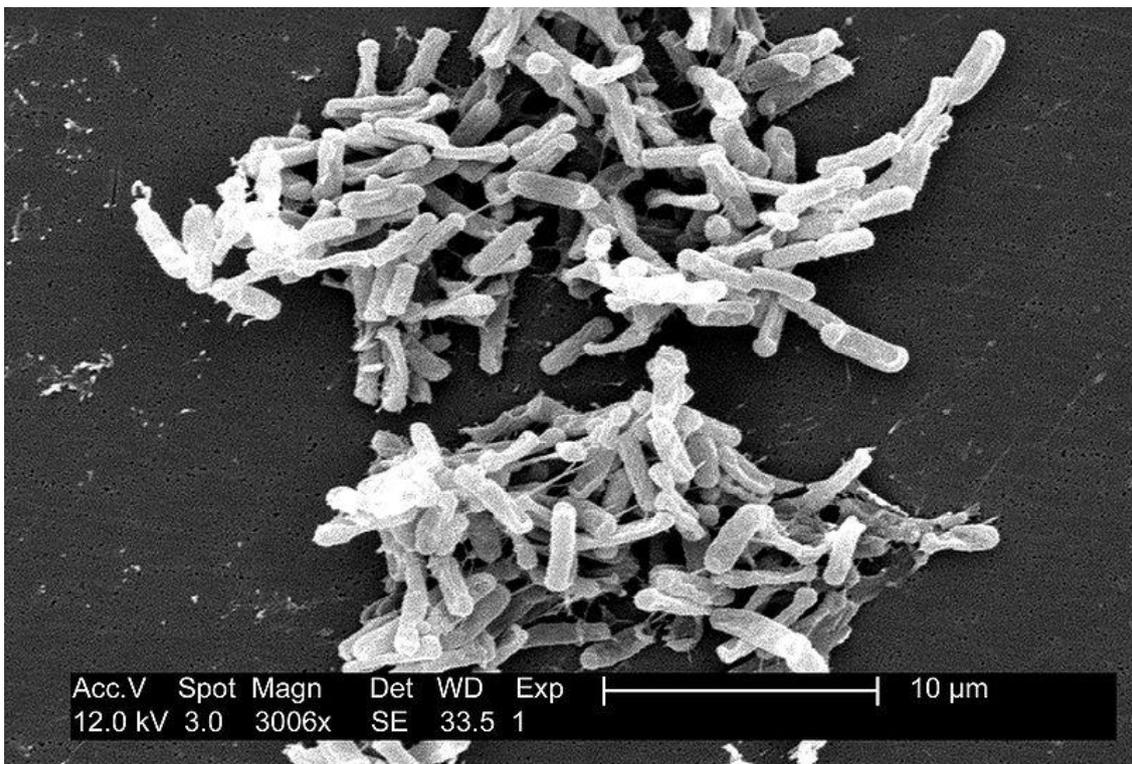
nutriente en el medio de cultivo, la presencia de algún compuesto tóxico, la falta de alguna molécula de señalización o la presencia de un microorganismo más competitivo que "roba los nutrientes al resto." Sin embargo, presenta una gran ventaja y es que permite aislar al microorganismo, guardarlo y recultivarlo todas las veces necesarias para estudiar su fenotipo y genotipo.

En contraposición, el estudio del microbioma explota la capacidad de la nueva tecnología llamada "Next Generation Sequencing" de secuenciar una gran cantidad de ADN en muy poco tiempo. El procedimiento es justo el contrario. De muestra de partida, fecal o intestinal, se extrae todo el ADN y se secuencia. Como resultado obtenemos el genoma completo de todos los microorganismos del intestino, pero en millones de pequeños fragmentos mezclados. El siguiente paso es montar los puzzles, uno para cada microorganismo. Debido a la imposibilidad de identificar cada fragmento con su bacteria sin tener un modelo de cada uno de ellos, por tanto la siguiente llamada del consorcio internacional para el estudio del microbioma humano ha sido para pedir a la comunidad científica la secuenciación del genoma de cada uno de los microorganismos conocidos. La ingente cantidad de datos que deben ser procesado ha supuesto el desarrollo de una nueva rama de la biología llamada bioinformática.

Los resultados de las técnicas microbiológicas clásicas, junto con la experimentación en animales gnotobióticos (sin microbiota) y en animales con microbiota inoculada por el experimentador, conocida y controlada, han descrito la relación simbiótica entre la salud de nuestra microbiota y la nuestra. De hecho, cualquiera que haya padecido un episodio diarreico lo ha confirmado. Entre las funciones que realiza el intestino como indispensables se encuentran la síntesis de vitaminas y la defensa frente a infecciones causadas por bacterias patógenas. Esta última la realizan de diferentes modos, por ejemplo, siendo los primeros microorganismos con los que se enfrenta el sistema inmunitario por lo que supone un "entrenamiento" para nuestras defensas. O compitiendo directamente con los patógenos por el hábitat o mediante la secreción de sustancias que inhiben el crecimiento o causen la muerte de otros microorganismos. Un ejemplo de fallo del sistema de defensa de la microbiota lo encontramos en la enfermedad causada por *Clostridium difficile*.

C. difficile es una bacteria grampositiva que puede habitar el tracto intestinal de animales, incluido el hombre. Además, puede permanecer bastante tiempo en el ambiente externo gracias a su estructura de resistencia: el esporo. En general, si se encuentra en el tracto intestinal es en un número tan bajo que puede ser controlada por el resto de poblaciones de microorganismos que lo circundan. Hasta que hay una perturbación en el ecosistema intestinal. El desequilibrio podría ser causado por la ingesta masiva y prolongada de antibióticos para tratar una infección, generalmente por vía oral, que mata a los microorganismos de la microflora. Resisten aquellos que tienen genes de resistencia a antibióticos, como *C. difficile* que es resistente a casi todos los antibióticos usados habitualmente. Entonces, una especie de microorganismos que en condiciones normales no tiene ninguna oportunidad experimenta un sobrecrecimiento y comienza a sintetizar toxinas, causantes de los síntomas

de profusa diarrea y fuerte dolor intestinal que experimenta el paciente. La solución en este caso es usar el antibiótico para el cual *C. difficile* no es resistente, vancomicina o metronidazol, y favorecer el crecimiento de la flora normal hasta que las proporciones de microorganismos vuelvan a la normalidad. El proceso posterior es semejante al que ocurre en un bosque tras un incendio: tras cierto tiempo comienzan a crecer vegetales transitorios que prepararan el camino a los definitivos. Evidentemente, el intestino tarda mucho menos tiempo en "repoblarse". En casos de clostridiosis recurrentes, que no se solucionan con la administración de antibióticos, ciertos hospitales someten al paciente a una técnica denominada trasplante de heces. Exactamente, se introducen heces al paciente de una persona de su entorno y sana, para darle un ecosistema intestinal sano que le permita recuperar su flora intestinal funcional.



Bacteria Clostridium difficile. Image credit: CDC/Dr. Holdeman.

¿Esta modificación de la microflora de un enfermo para curarle es lo que ha despertado un debate ético? La respuesta la encontramos en los resultados de los experimentos de nueva generación explicados unas líneas más arriba. Como resultado de la secuenciación "a lo bruto" se obtiene una marea de datos que, para empezar, se analizan con la sencilla técnica de hacer listas. En primer lugar podemos localizar todos los genes 16S del batiburrillo e identificarlos. De este modo obtendremos un listado con todas las bacterias de la muestra. Como segunda información tenemos todo el resto de genes, que también se pueden listar. Así habremos obtenido todos los genes codificados en el microbioma, muchos de ellos genes que codifican proteínas conocidas, lo que nos permite inferir las capacidades "extra" de nuestro tracto intestinal. Y gracias al software bioinformático y conceptos básicos y clásicos de ecología, como la biodiversidad, se han extraído interesantes conclusiones.

Para comenzar, han confirmado los resultados obtenidos mediante las técnicas tradicionales. Por ejemplo, se sabe que *Bifidobacterium* dominan la comunidad fecal en el primer año de vida y, al aumentar la edad del individuo, su presencia disminuye. En esta edad también están sobrerrepresentados los géneros de *Streptococcus*, *Lactococcus* y *Lactobacillus*. Al mismo tiempo, los niños no presentan genes en el intestino para la síntesis de covalamina o vitamina B₁₂. En adultos predominan los taxones Bacteroidetes, Firmicutes y Archeas y presentan una gran cantidad de genes que codifican para la vitamina B₁₂. Este es uno de los muchos casos que ilustran como la sucesión ecológica que ocurre en el ecosistema intestinal desde que el individuo nace hasta que adquiere la microbiota estable "de adulto" tiene repercusiones a nivel funcional, conociendo que bifidobacterias, estreptococos, lactococos y lactobacilos no tienen en su genoma el gen que codifica para la covalamina y sí lo presentan los microorganismos que los sustituyen en el adulto.

Otro ejemplo confirmado podría ser la mayor cantidad de genes implicados en la síntesis "di novo" del folato en neonatos, que se sustituyen por genes involucrados en el metabolismo del folato ingerido y sus derivados, a medida que crecemos. Así mismo, se ha estudiado como la concentración de folato en sangre disminuye con la edad.

Pero la importancia de estos estudios no reside tanto en los detalles, ya descritos anteriormente, sino en el conjunto, en las características del microbioma. La composición del microbioma de un individuo es única, pero se encuentran características comunes a nivel de familia, desde dos puntos de vista. A nivel de géneros, familias, clases, ordenes y phyla de los procariotas que habitan el tracto intestinal y a nivel de familia, población y hábitos culturales del hospedador de la microflora.

Esto se traduce como la existencia de una composición filogenética característica en cada población, es decir, una proporción diferente de los géneros y familias presentes en la microflora para cada grupo poblacional humano, llamada huella, "core" o enterotipo. Y que, como una pescadilla que se muerde la cola, está determinada por el componente cultural: la dieta y el entorno. Sobre todo, se confirma en los adultos, cuyo microbioma se caracteriza por tener mayor estabilidad y baja variabilidad dentro de la población. A efectos de la microbiota, la "edad adulta" del ser humano inicia cuando los niños tienen alrededor de tres años.

Por contra, en neonatos se observa una mayor variabilidad dentro de la población y menor entre poblaciones. Esto indica que existe un periodo de estabilización del ecosistema intestinal, una primera sucesión ecológica como la descrita una líneas más arriba en la recuperación por clostridiosis. Los microorganismos ambientales adquiridos de la madre y del entorno serán seleccionados en base a los hábitos alimenticios de las poblaciones estudiadas. Sin embargo, también a esta edad se han individuado algunos taxones como posibles indicadores del enterotipo. Este es el caso del género *Prevotella*, más representado en poblaciones de EEUU o África. Sin embargo, la presencia de *Prevotella* disminuye con la edad, compensándose con *Bacteroidetes*. Dentro de un mismo grupo humano, las mayores diferencias descritas se deben al nacimiento por parto natural o cesárea y a

la alimentación con leche materna o sintética. Diferencia que se diluye a medida que la sucesión ecológica amolda la comunidad bacteriana a los hábitos alimenticios del individuo.

Más allá de eso, la fuerte simbiosis establecida entre el hospedador y los microorganismos intestinales implica, como hemos dicho, que genes que nosotros utilizamos no están en nuestras células sino en las de nuestros compañeros procariotas. Esto ha llevado a experimentar con modelos animales si podrían estar relacionados con enfermedades no directamente ligadas con el intestino como podrían ser las diarreas. Y han obtenido resultados positivos, pues se ha visto que animales con una microbiota elegida desarrollan enfermedades como la enfermedad inflamatoria intestinal (que engloba principalmente a la colitis ulcerosa y a la enfermedad de Chron), la obesidad, la diabetes o el cáncer.

En este punto es donde comienza el debate ético porque si los genes de los simbioses de nuestro intestino nos otorgan funcionalidades extra, cambiar a esos microorganismos ¿podría considerarse que se ha modificado el genoma del ser humano que los hospeda? En adultos, la estabilidad del microbioma hace presuponer que aunque se introduzcan microorganismos de forma "artificial", no se convertirían en parte estable de la microflora pues serían rechazados por el resto de microorganismos microbioma. En realidad, es uno de los problemas que se encuentran los alimentos anunciados como probióticos para actuar como tal. Sin embargo, si se introducen en neonatos las especies adecuadas de microorganismos, teóricamente se podría dirigir la formación del ecosistema intestinal hacia una combinación que previniera las enfermedades. La pregunta que muchos se hacen es ¿prevención o manipulación genética? Porque como hemos visto, se introducirían genes a propósito, aunque sean los de los microorganismos de la flora normal. Y la siguiente es ¿y si estos microorganismos son fabricados? Es decir, ¿si en lugar de conformarnos a elegir las bacterias más idóneas para formar parte del intestino, se crearan microorganismos transgénicos, es decir, que incluyeran genes elegidos, por ejemplo no bacterianos, que codifiquen para proteínas "extra"? Y como buen dilema ético, existen tantas argumentaciones como personas.

Bibliografía:

- Arumugam M et al. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 473(7346):174-80.
- Gootenberg DB and Turnbaugh PJ. 2011. Companion animals symposium: humanized animal models of the microbiome. *J Anim Sci*. 89(5):1531-7.
- Karlsson FH et al. 2011. Prospects for systems biology and modeling of the gut microbiome. *Trends Biotechnol*. 29(6):251-8.
- Holmes E et al. 2011. Understanding the role of gut microbiome-host metabolic signal disruption in health and disease. *Trends Microbiol*. 19(7):349-59.
- Yatsunenkov T et al. 2012. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 9;486(7402):222-7.