

# FLORA INTESTINAL Y PROBIÓTICOS COMO ALIMENTOS DEL NUEVO MILENIO



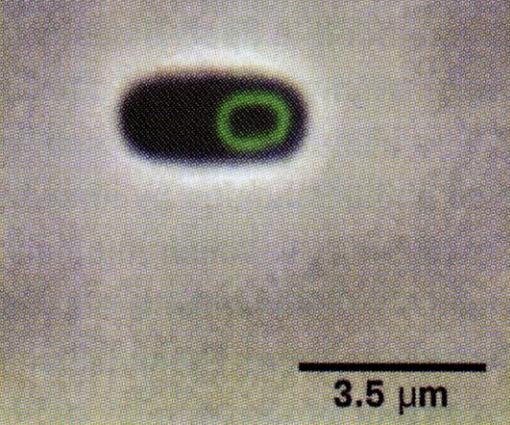
**Dr. Roberto Ricardo Grau**

**Universidad Nacional de Rosario (UNR)  
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas  
(FCByF)  
CONICET – Rosario**

***[www.microbiologiarosario.org](http://www.microbiologiarosario.org)***

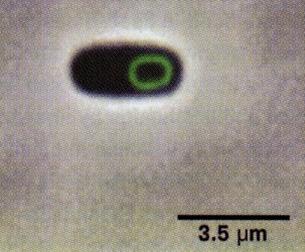


**30 de Octubre de 2017**



# INTERACCIÓN ENTRE LA FLORA INTESTINAL PROBIÓTICA Y EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

¿ QUÉ ENTENDEMOS POR  
PROBIÓTICO ?

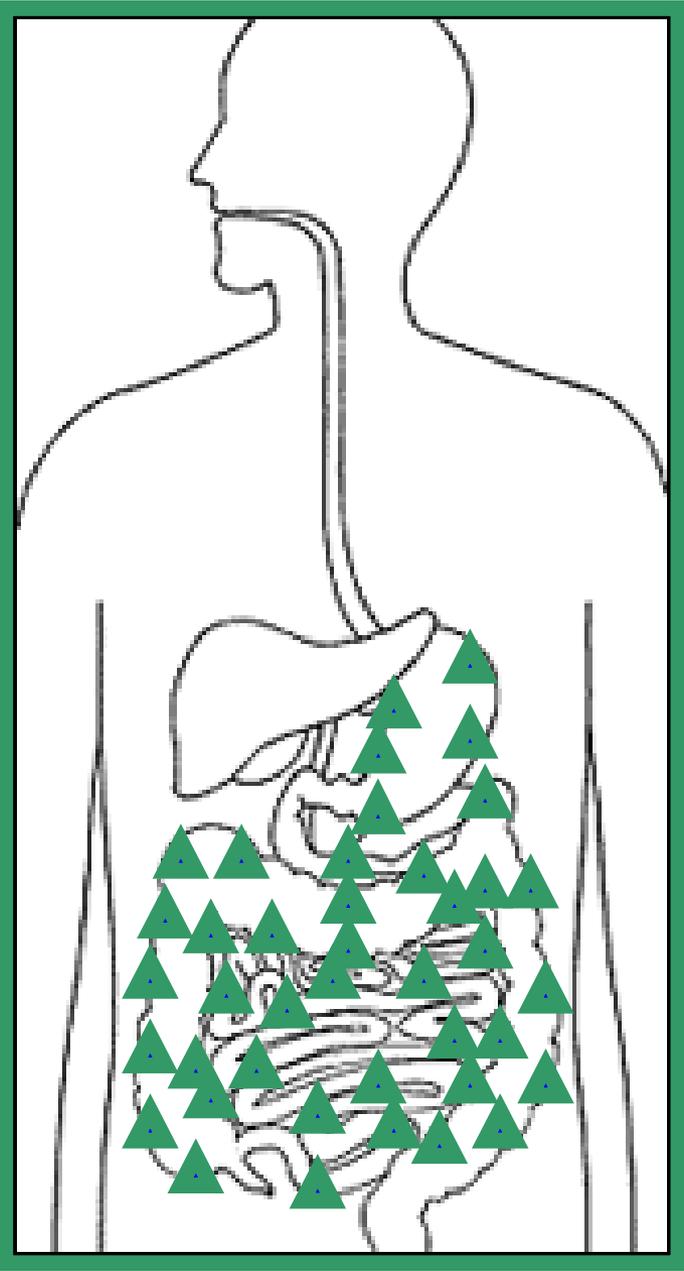
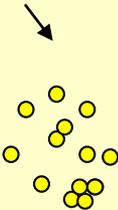


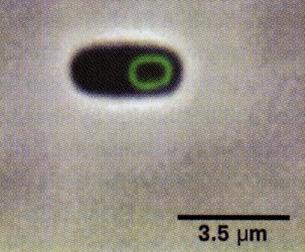
# DEFINICIÓN DE PROBIÓTICO

Una definición reciente, aceptada internacionalmente, indica que:

**“Los probióticos son microorganismos vivos que, ingeridos en una cantidad adecuada, deben llegar vivos a su sitio de acción (mucosas) y producir efectos beneficiosos sobre la salud del que los consume más allá del aporte nutricional intrínseco de esos microorganismos (por ejemplo ser fuente de aminoácidos y vitaminas)”**

Patógenos

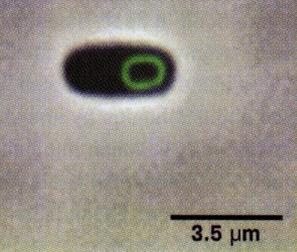




# ¿CUÁLES SON LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS MÁS TRADICIONALES?

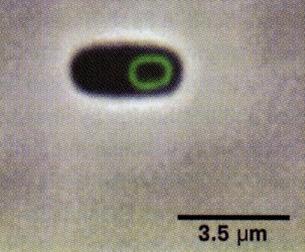
- ❖ ***Lactobacillus***: *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. kefir*.
- ❖ ***Lactococcus***: *L. lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*.
- ❖ ***Streptococcus***: *S. thermophilus*, *S. lactis*.
- ❖ ***Bifidobacterium***: *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. adolescentis*.
- ❖ **Otros**: *Enterococcus* spp., *Sacharomyces cereviseae*, *Leuconostoc* spp.

**EXISTE UNA GRAN PREDOMINANCIA DE LAS BACTERIAS LÁCTICAS**



## ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?

- **Producción de compuestos antimicrobianos**
- **Estimulación de la inmunidad celular y humoral**
- **Actividad antimutagénica y anticancerígena**
- **Mejoramiento del metabolismo de la lactosa**
- **Reducción del colesterol sérico**
- **Control de diferentes tipos de diarreas y alergias**
- **Aumento de la proporción de BAL y disminución de clostridios**
- **Sensación de bienestar general y aumento de la esperanza de vida (life-span).**
- **Etc. etc. etc.....**



# ALGUNOS MICROBIOS SON MUY BUENOS COMPAÑEROS

## Probiotics-host communication

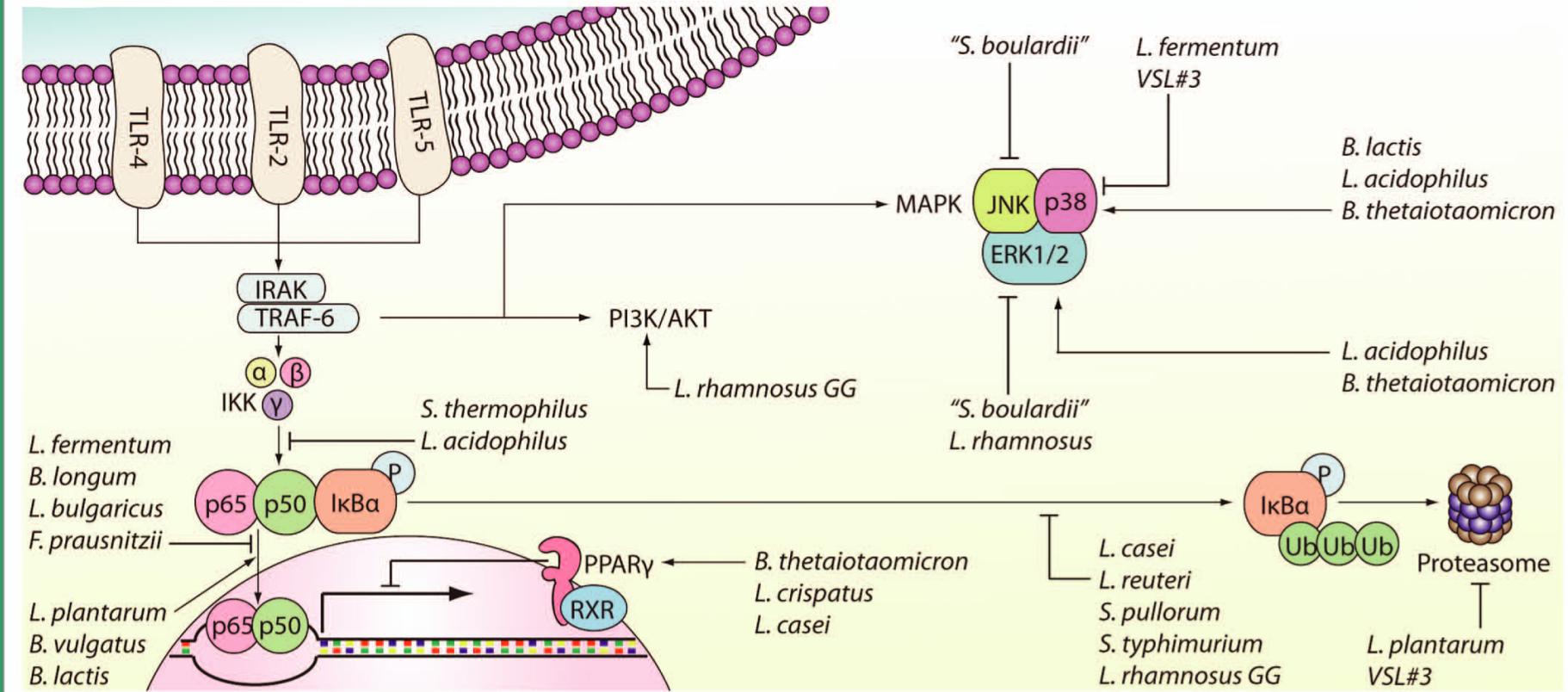
Modulation of signaling pathways in the intestine

Carissa M. Thomas<sup>1,2</sup> and James Versalovic<sup>1-3,\*</sup>

<sup>1</sup>Interdepartmental Program of Cell and Molecular Biology; and <sup>2</sup>Department of Pathology and Immunology; Baylor College of Medicine; Houston, TX USA;

<sup>3</sup>Department of Pathology; Texas Children's Hospital; Houston, TX USA

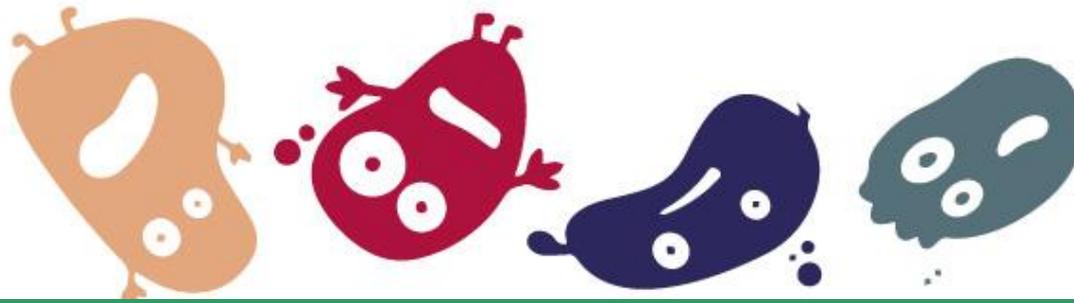
# ALGUNOS MICROBIOS SON MUY BUENOS COMPAÑEROS



**Figure 2.** Probiotics modulate key signaling pathways in intestinal epithelial cells. Various probiotics prevent NFκB activation by inhibiting IκBα phosphorylation, ubiquitination, proteasomal degradation, or translocation of NFκB into the nucleus (suppression is indicated by a block sign "⊥"). Probiotics can also enhance RelA export from the nucleus via PPARγ. Other probiotics increase NFκB activation through enhanced translocation into the nucleus (activation is indicated by an arrow sign "→"). Apoptosis of intestinal epithelial cells can be prevented by probiotic modulation of the PI3K/Akt pathway. Probiotic-induced changes in phosphorylation levels of p38, JNK, and ERK1/2 MAPKs can affect cytokine secretion and apoptosis. ERK, extracellular signal-regulated kinases; IκBα, inhibitor of NFκB α; IKK, IκB kinase; IRAK, interleukin-1 receptor-associated kinase; JNK, c-Jun N-terminal kinase; P, phosphorylation; PPARγ, peroxisome proliferator activated receptor-γ; RXR, retinoid X receptor; TLR, Toll-like receptor; Ub, ubiquitin.

**Table 1.** Probiotic modulation of signaling pathways in intestinal epithelial cells and macrophages

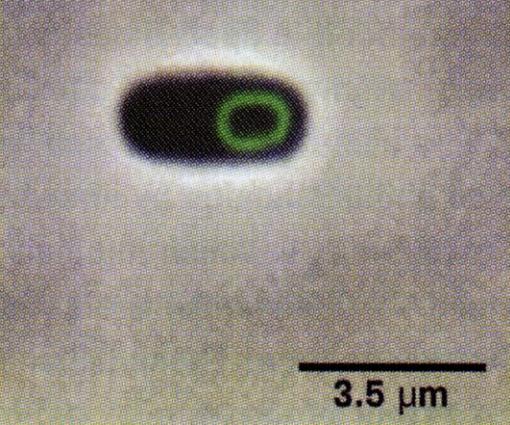
Probiotic species	Model system	Signaling pathway	Probiotic effect(s)	Reference(s)
<i>Bacillus subtilis</i> JH642	IECs	hsp	Induces hsp27, hsp25 and hsp70	Fujiya, et al. 2007, <sup>30</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> JH642	IECs	MAPKs	Increases p38 phosphorylation	Fujiya, et al. 2007, <sup>30</sup>
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 23745	IECs	hsp	Induces hsp25 and hsp72	Kojima, et al. 2003, <sup>29</sup>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> ATCC 29184	IECs	MAPKs	Activation of ERK1/2 and p38	Resta-Lenert, et al. 2006, <sup>46</sup>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	IECs	NFκB	Enhances RelA nuclear export via PPARγ	Kelly, et al. 2004, <sup>49</sup>
<i>Bacteroides vulgatus</i>	IECs	NFκB	Increases IκBα phosphorylation	Haller, et al. 2002, <sup>44</sup>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15703	Macrophages	NFκB	Decreases IκBα phosphorylation, increases SOCS	Okada, et al. 2009, <sup>67</sup>
<i>Bifidobacterium bifidum</i> B536	Macrophages	NFκB	Decreases LPS binding to CD14	Menard, et al. 2004, <sup>62</sup>
<i>Bifidobacterium breve</i> BbC50	Macrophages	NFκB	Decreases LPS binding to CD14	Menard, et al. 2004, <sup>62</sup>
<i>Bifidobacterium lactis</i> BB12	IECs	NFκB	Activates RelA	Ruiz, et al. 2005, <sup>43</sup>
<i>Bifidobacterium lactis</i> BB12	IECs	MAPKs	Increases p38 phosphorylation	Ruiz, et al. 2005, <sup>43</sup>
<i>Bifidobacterium longum</i>	IECs	NFκB	Decreases p65 translocation	Bai, et al. 2004, <sup>39</sup> Bai, et al. 2006, <sup>40</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i> EC1/EC3/EC15/EC16	IECs	PPARγ	Induced phosphorylation of PPARγ1	Are, et al. 2008, <sup>50</sup>
<i>Escherichia coli</i> M17	Macrophages	NFκB	Inhibits p65 nuclear binding	Fitzpatrick, et al. 2008, <sup>58</sup>
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> DSM 17677	IECs	NFκB	Inhibits NFκB activation	Sokol, et al. 2008, <sup>41</sup>
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	IECs	MAPKs	Activation of ERK1/2 and p38	Resta-Lenert, et al. 2006, <sup>46</sup>
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	IECs	NFκB	Decreases IκBα phosphorylation	Resta-Lenert, et al. 2006, <sup>46</sup>



**POR LO TANTO ES MUY DIFÍCIL NO ESTAR A FAVOR DE LOS PROBIÓTICOS**

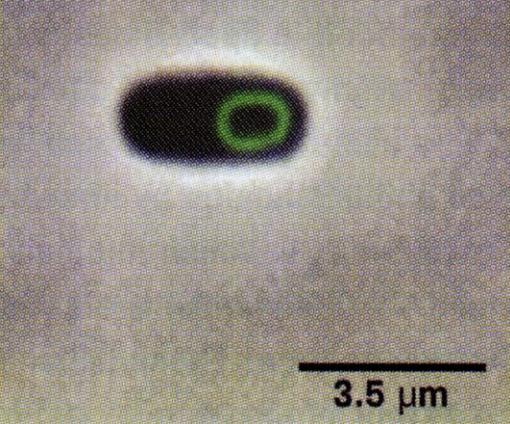


**LAS BACTERIAS LÁCTICAS O LACTOBACILOS SON LOS PROBIÓTICOS MÁS COMUNES**



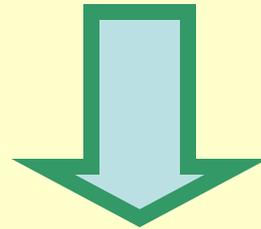
# INTERACCIÓN ENTRE LA FLORA INTESTINAL PROBIÓTICA Y EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

¿ DE DÓNDE PROVIENEN LOS  
PROBIÓTICOS ?



# INTERACCIÓN ENTRE LA FLORA INTESTINAL PROBIÓTICA Y EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

**¿ QUÉ ENTENDEMOS POR FLORA  
INTESTINAL O COMENSAL?**



**ESTÁ INTEGRADA PRINCIPALMENTE POR BACTERIAS  
DE LAS “BUENAS”**



**¿ CUÁNDO Y DESDE DÓNDE LA ADQUIRIMOS ?**



# NEUROMICROBIOLOGÍA

## Microbiota intestinal y sus efectos sobre el sistema nervioso y longevidad

1

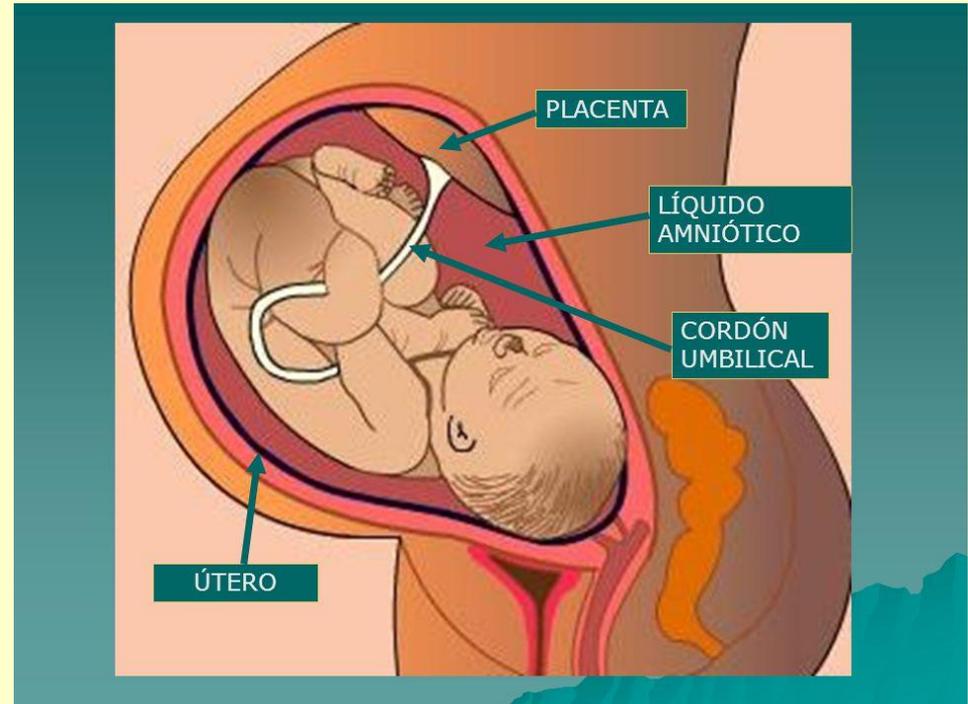
**DURANTE EL EMBARAZO NINGUNA BACTERIA**

“Desde la placenta y el líquido amniótico”

2

**EN EL MOMENTO DEL PARTO POR LA FLORA VAGINAL DE LA MADRE**

El parto por cesárea se asocia con problemas de salud a futuro: asma, alergias, enfermedad celíaca y eczemas



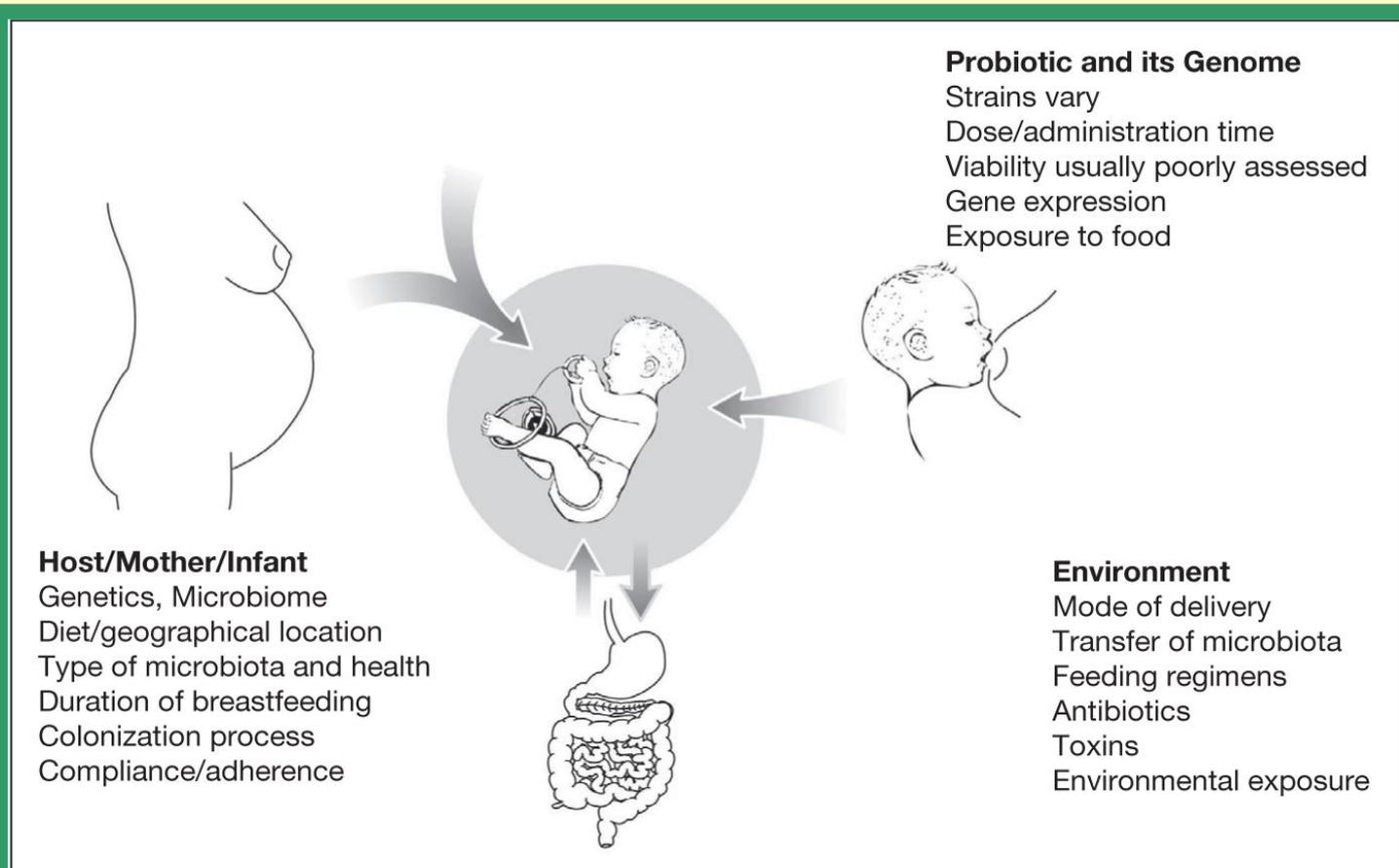


# NEUROMICROBIOLOGÍA

## Microbiota intestinal y sus efectos sobre el sistema nervioso y longevidad

3

**LUEGO DEL NACIMIENTO ADQUIRIMOS PARTE DE LA FLORA A TRAVÉS DEL AMAMANTAMIENTO**



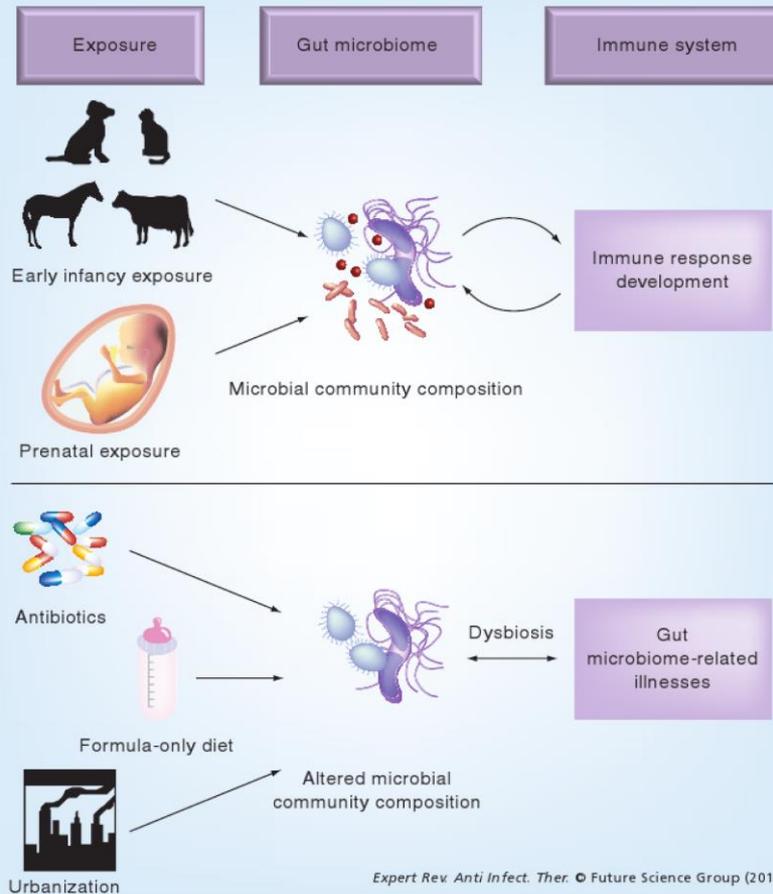


# NEUROMICROBIOLOGÍA

## Microbiota intestinal y sus efectos sobre el sistema nervioso y longevidad

4

POR ÚLTIMO  
DEL MEDIO  
AMBIENTE Y  
LOS  
ALIMENTOS

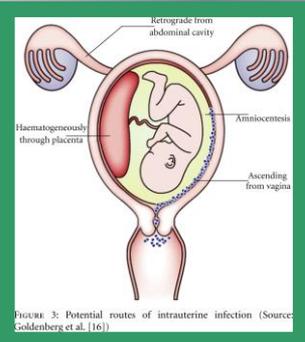


Expert Rev Anti Infect. Ther. © Future Science Group (2010)

SON 4 FACTORES  
QUE AFECTAN  
LA FLORA  
INTESTINAL DEL  
INFANTE Y EL  
DESARROLLO  
TEMPRANO DEL  
SISTEMA  
INMUNOLÓGICO Y  
NERVIOSO



**“5”**  
**Desde  
la  
placenta???**



**The placenta harbors a unique microbiome (Mayo de 2014)**

**Humans and their microbiomes have coevolved as a physiologic community composed of distinct body site niches with metabolic and antigenic diversity. The placental microbiome has not been robustly interrogated, despite recent demonstrations of intracellular bacteria with diverse metabolic and immune regulatory functions.**

A population-based cohort of placental specimens collected under sterile conditions from 320 subjects with extensive clinical data was established for comparative 16S ribosomal DNA-based and whole-genome shotgun (WGS) metagenomic studies. Identified taxa and their gene carriage patterns were compared to other human body site niches, including the oral, skin, airway (nasal), vaginal, and gut microbiomes from nonpregnant controls. **We characterized a unique placental microbiome niche, composed of nonpathogenic commensal microbiota from the Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, and Fusobacteria phyla.** In aggregate, the placental microbiome profiles were most akin (Bray-Curtis dissimilarity <0.3) to the human oral microbiome. 16S-based operational taxonomic unit analyses **revealed associations of the placental microbiome with a remote history of antenatal infection** (permutational multivariate analysis of variance,  $P = 0.006$ ), **such as urinary tract infection in the first trimester, as well as with preterm birth <37 weeks** ( $P = 0.001$ ).

**Comment on "the placenta harbors a unique microbiome".**

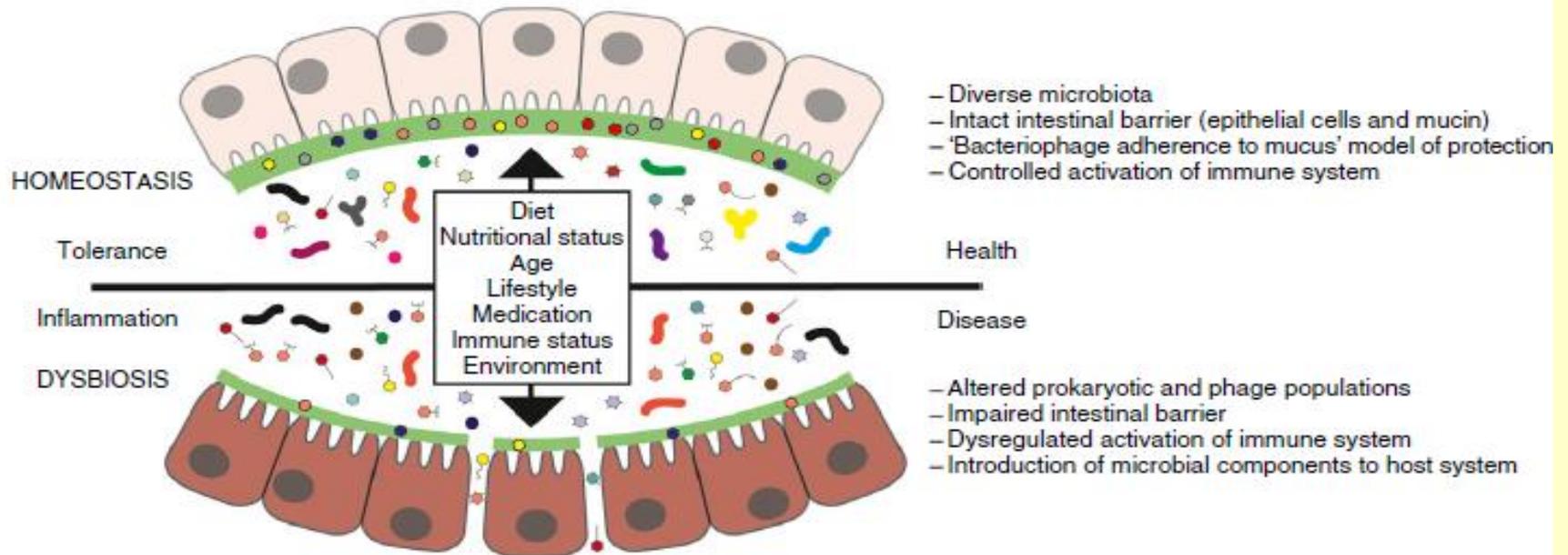
**Y CONTINUA.....**



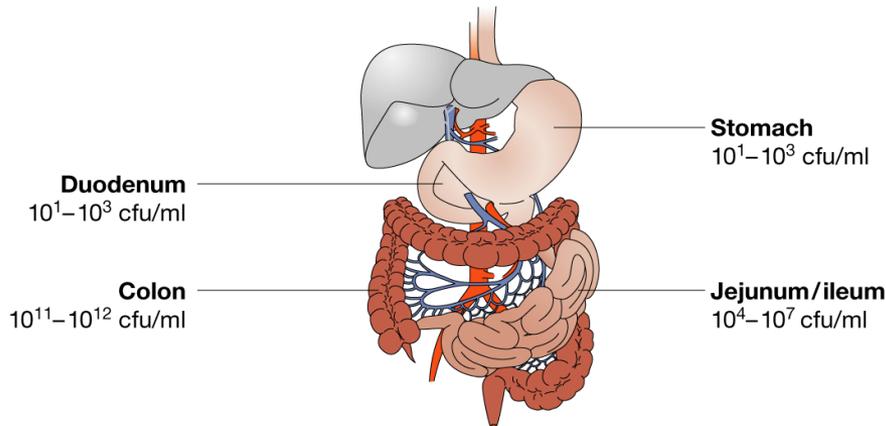
# NEUROMICROBIOLOGÍA

## Microbiota intestinal y sus efectos sobre el sistema nervioso y longevidad

- LA DIETA DE LA PERSONA TAMBIÉN CUMPLE UN ROL CLAVE EN LA COMPOSICIÓN DE LA FLORA INESTINAL.
- UNA DIETA RICA EN GRASAS Y POBRE EN FIBRAS PRODUCE UNA DISMINUCIÓN EN LA DIVERSIDAD MICROBIANA DE LA FLORA DE LA PERSONA.
- ESTO SE ASOCIA FUERTEMENTE A UNA MENOR SALUD DEL INDIVIDUO
- AFORTUNADAMENTE ESTO ES REVERSIBLE CAMBIANDO LA DIETA
- SI LA DIETA NO SE CAMBIA, ESTA POBRE DIVERSIDAD MICROBIANA ES TRANSMITIBLE A LA DESCENDENCIA



A



Anaerobic genera	Aerobic genera
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Escherichia</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Enterococcus</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Klebsiella</i>

B

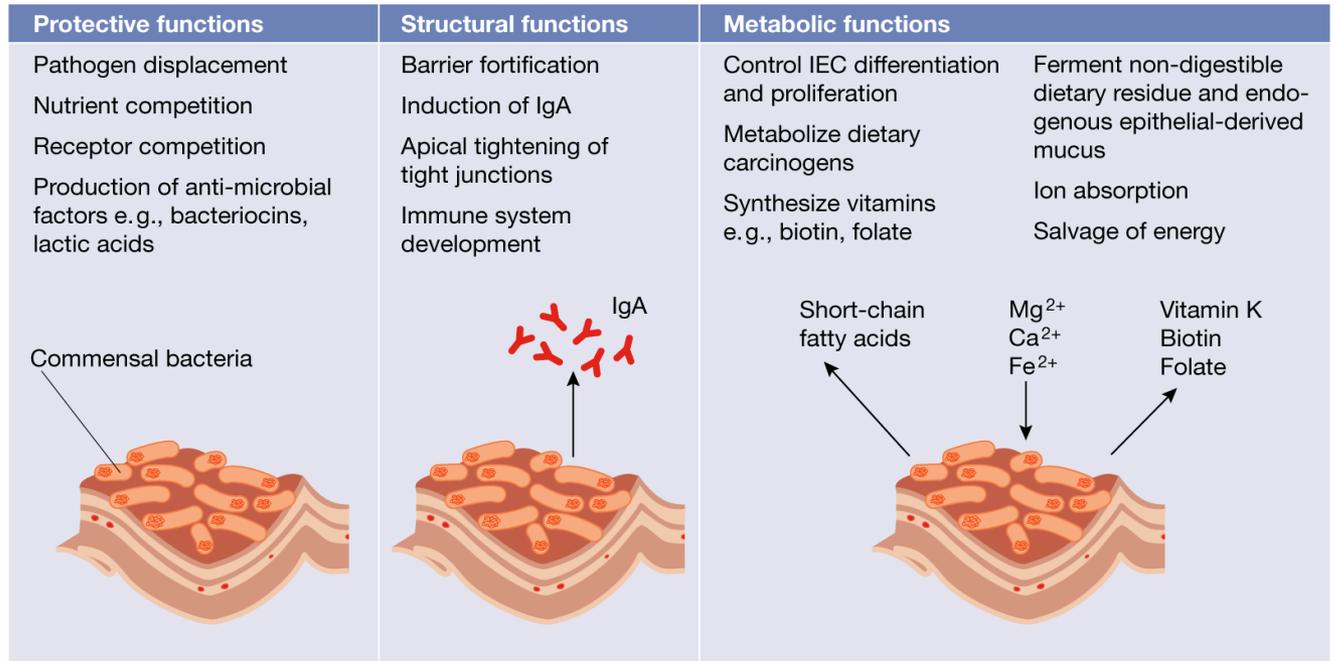
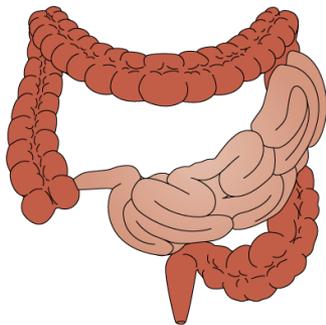


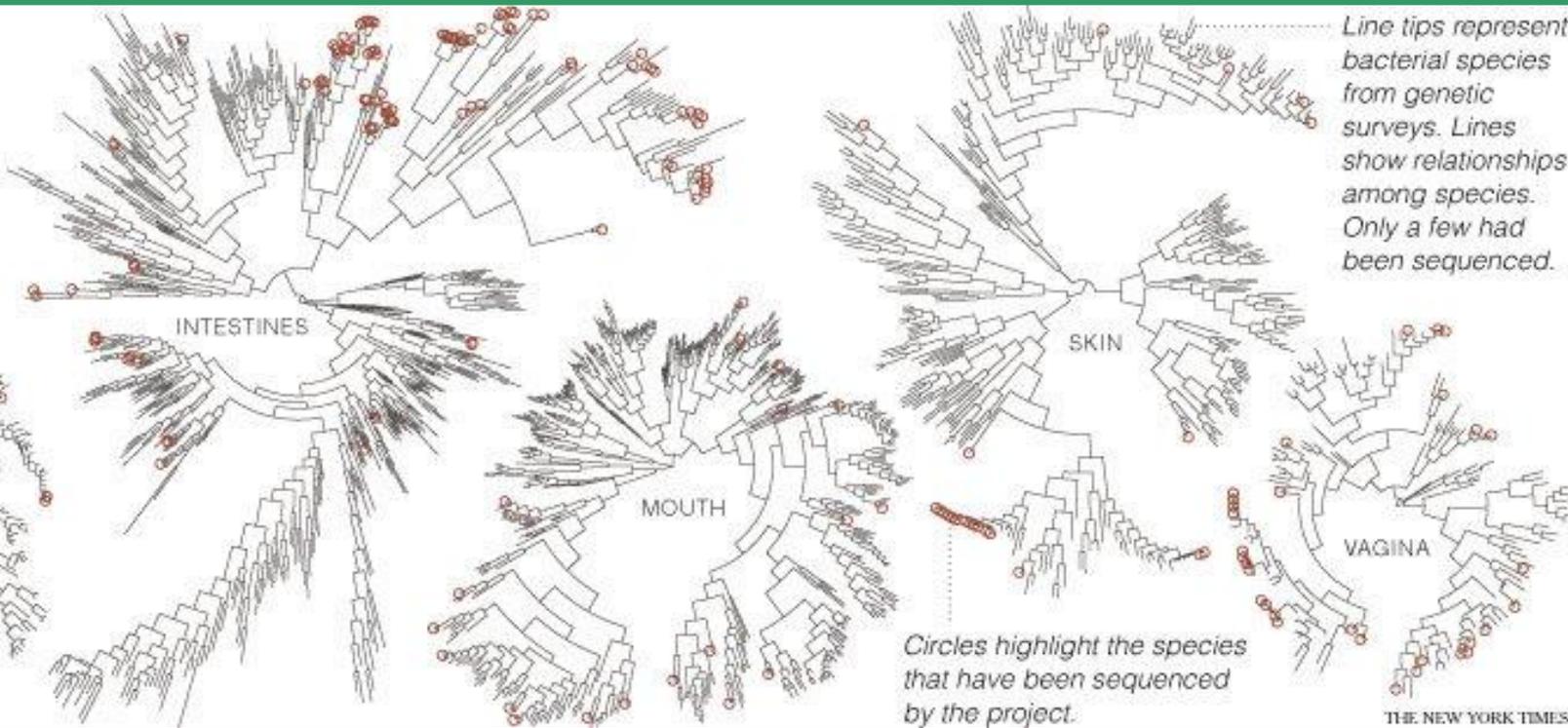
Fig 1 | Functions of the intestinal flora. (A) Bacteria density increases in the jejunum/ileum from the stomach and duodenum, and in the large intestine, colon-residing bacteria achieve the highest cell densities recorded for any ecosystem. The most common anaerobic and aerobic genera are listed. (B) Commensal bacteria exert a miscellany of protective, structural and metabolic effects on the intestinal mucosa.

# EL SER HUMANO NO ESTÁ CONFORMADO ÚNICAMENTE POR CÉLULAS HUMANAS SINO TAMBIÉN POR CÉLULAS BACTERIANAS: SOMOS UN HOLOBIONTE



## Microbiomes

A project to gather and sequence DNA from the thousands of microbe species living in and on the human body has completed work on 369 species to date.



Source:  
Human Microbiome Project

THE NEW YORK TIMES

# The gut flora as a forgotten organ

Ann M. O'Hara<sup>1</sup> & Fergus Shanahan<sup>1,2+</sup>

Alimentary Pharmabiotic Centre, University College Cork, National University of Ireland, Cork, Ireland

**The intestinal microflora is a positive health asset** that crucially influences the normal structural and functional development of the mucosal immune system. Mucosal immune responses to resident intestinal microflora require precise control and an immunosensory **capacity for distinguishing commensal from pathogenic bacteria**. In genetically susceptible individuals, some components of the flora can become a liability and contribute to the pathogenesis of various intestinal disorders, including inflammatory bowel diseases. It follows that **manipulation of the flora to enhance the beneficial components represents a promising therapeutic strategy**. The flora has a collective metabolic activity **equal to a virtual organ within an organ, and the mechanisms underlying the conditioning influence of the bacteria on mucosal homeostasis and immune responses are beginning to be unravelled**. An improved understanding of this hidden organ will reveal secrets that are relevant to human health and to several infectious, inflammatory and neoplastic disease processes.

**EXISTE UNA RELACIÓN ESTRECHA ENTRE LA FLORA COMENSAL  
Y EL SISTEMA INMUNOLÓGICO**



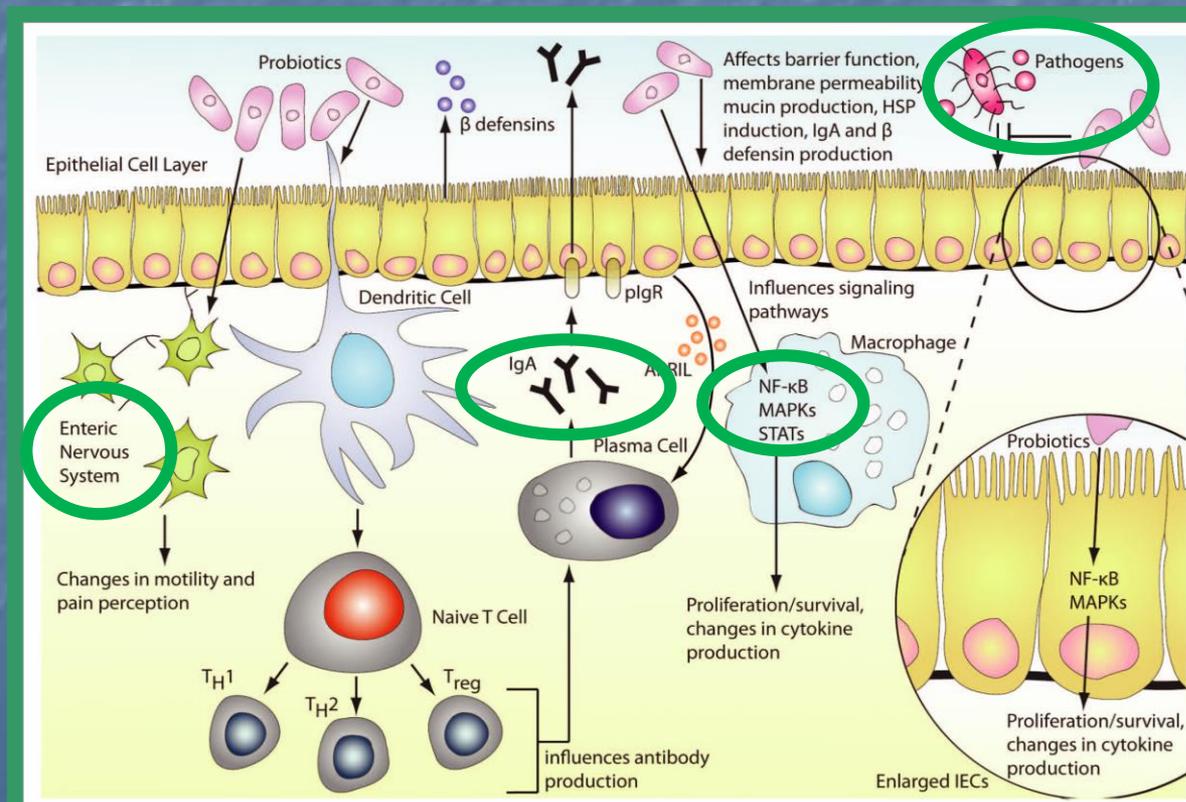
# NEUROMICROBIOLOGÍA

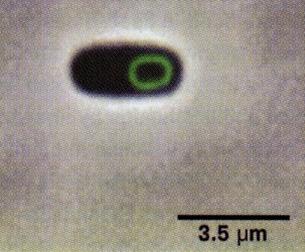
## Microbiota intestinal y sus efectos sobre el sistema nervioso y la longevidad

# The gut flora as a forgotten organ

Ann M. O'Hara<sup>1</sup> & Fergus Shanahan<sup>1,2+</sup>

Alimentary Pharmabiotic Centre, University College Cork, National University of Ireland, Cork, Ireland





# ALGUNOS MICROBIOS SON MUY BUENOS COMPAÑEROS

- EXISTE UNA RELACIÓN ENTRE LA FLORA NORMAL Y EL SISTEMA INMUNOLÓGICO



- EXISTE UNA RELACIÓN ENTRE EL SISTEMA INMUNOLÓGICO Y EL SISTEMA NERVIOSO

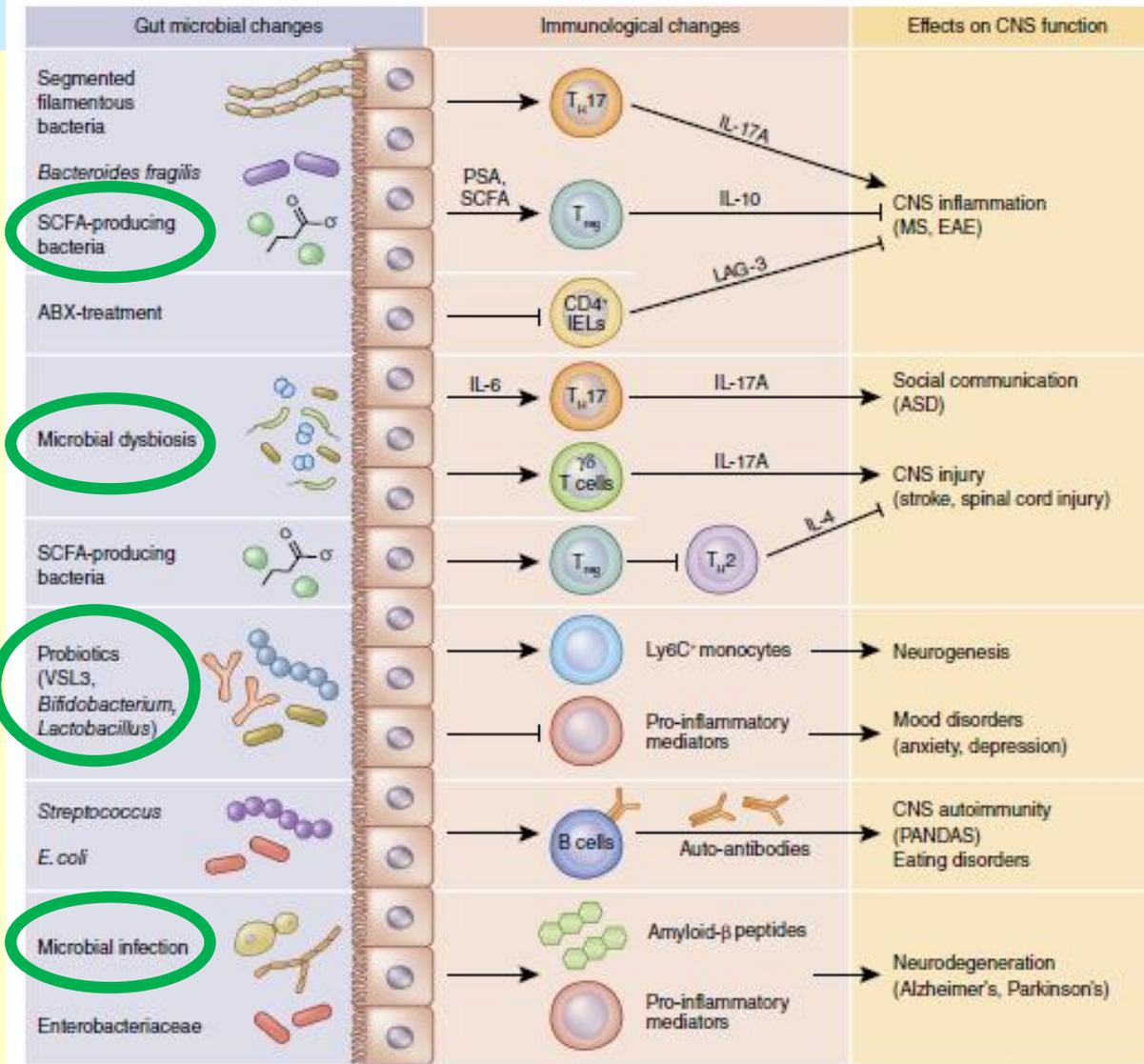


- ENTONCES DEBE EXISTIR UNA RELACIÓN (DIRECTA O INDIRECTA) ENTRE LA FLORA NORMAL Y EL SISTEMA NERVIOSO



# Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease

NATURE NEUROSCIENCE VOLUME 20 | NUMBER 2 | FEBRUARY 2017

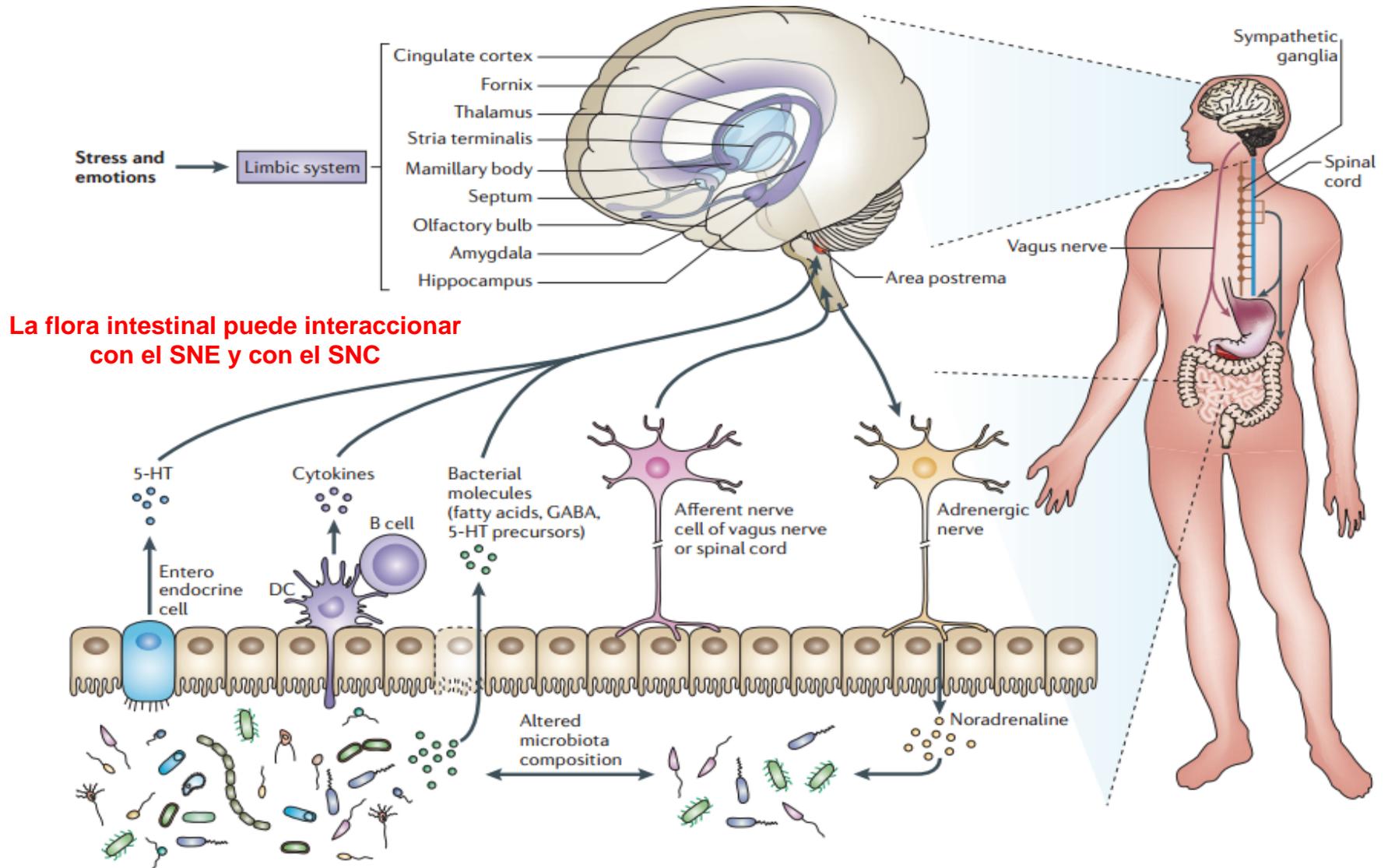


DENTRO DE LA FLORA INTESTINAL ESTÁN LOS PROBIÓTICOS



# NEUROMICROBIOLOGÍA

## Microbiota intestinal y sus efectos sobre el sistema nervioso y la longevidad





# Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations

NATURE | VOL 529 | 14 JANUARY 2016

- La **OBESIDAD DURANTE EL EMBARAZO** aumenta el riesgo de **AUTISMO** en ratones. Esto se correlacionaba con la flora intestinal de la madre y las crías.
- Mezclando crías normales con aquellas con un comportamiento alterado, se normalizó la flora y el comportamiento de los animales.
- Una sola especie bacteriana, *Lactobacillus reuteri*, fue suficiente para revertir el comportamiento anormal de los ratones.
- *L. reuteri* producía y liberaba **Oxitocina** (rol importante en el comportamiento social y de vínculos interpersonales).
- Transtornos del espectro autista (en EE.UU. 1 de cada 40 niños): autismo, síndrome de Asperger y trastornos generalizados del desarrollo.



# Microbial regulation of microRNA expression in the amygdala and prefrontal cortex

Hoban et al. *Microbiome* (2017) 5:102  
DOI 10.1186/s40168-017-0321-3

EL **ESTRÉS NEONATAL** PRODUCE CAMBIOS EN LA FLORA INTESTINAL QUE REPERCUTE EN EL FUNCIONAMIENTO CEREBRAL INDUCIENDO PROBLEMAS DE **ANSIEDAD, DEPRESIÓN, TRANSTORNOS COGNITIVOS Y DE SOCIABILIDAD.**

ESTOS FENÓMENOS SE CORRELACIONARON CON LA AUSENCIA O ALTERACIONES DE LOS **MICRO-ARNs** EN AMÍGDALA (procesamiento de las emociones) Y EN EL CORTEX PRE-FRONTAL (rol en el control de las emociones impulsivas, planeamiento y comportamiento) DEL CEREBRO.

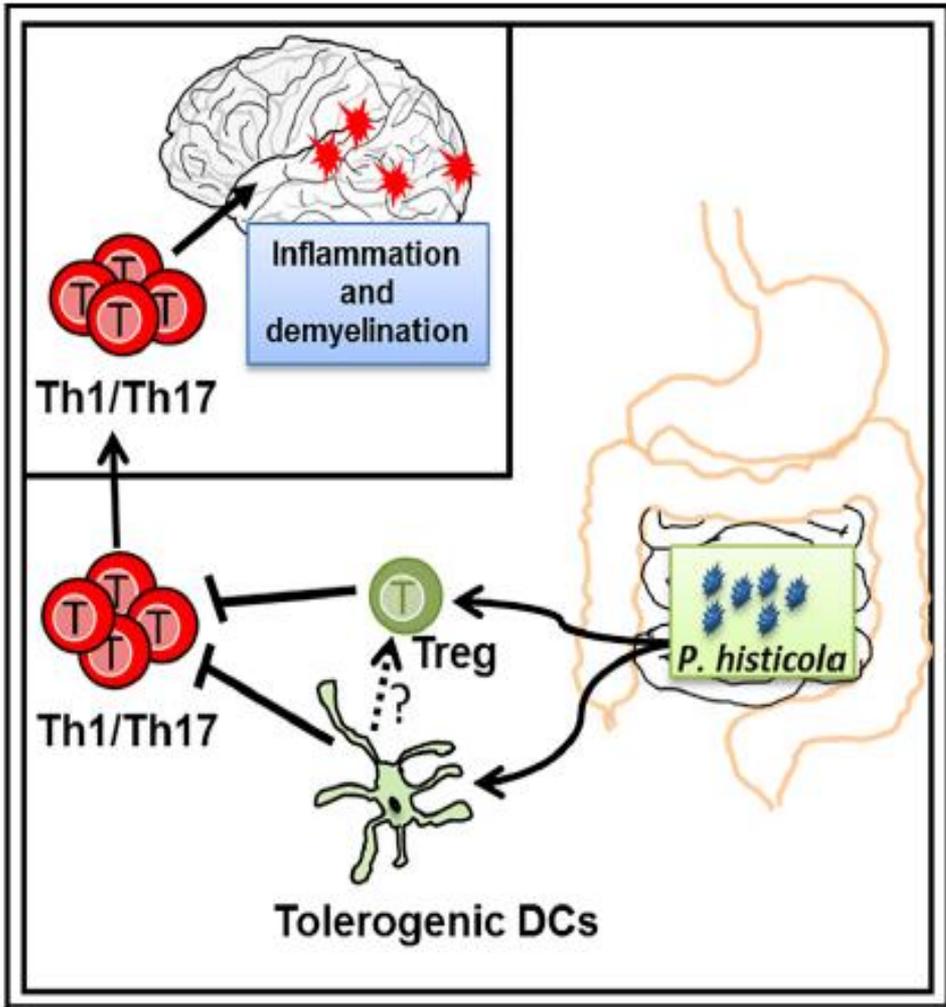
**CUANDO SE NORMALIZABA LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA, SE NORMALIZARON LOS NIVELES DE LOS miRNAs Y LOS PROBLEMAS DE COMPORTAMIENTO DE LOS ANIMALES.**

**SOLAMENTE EN EE.UU. HAY 40 MILLONES DE PERSONAS CON ESTE TIPO DE PROBLEMAS.**



# Human Gut-Derived Commensal Bacteria Suppress CNS Inflammatory and Demyelinating Disease

Mangalam et al., 2017, Cell Reports 20, 1269–1277  
August 8, 2017 © 2017 The Author(s).



The human gut is colonized by a large number of microorganisms ( $\sim 10^{13}$  bacteria) that support various physiologic functions. A perturbation in the healthy gut microbiome might lead to the development of inflammatory diseases, such as multiple sclerosis (MS). Therefore, gut commensals might provide promising therapeutic options for treating MS and other diseases. We report the identification of human gut-derived commensal bacteria, *Prevotella histicola*, which can suppress experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in a human leukocyte antigen (HLA) class II transgenic mouse model. *P. histicola* suppresses disease through the modulation of systemic immune responses. *P. histicola* challenge led to a decrease in pro-inflammatory Th1 and Th17 cells and an increase in the frequencies of CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells, tolerogenic dendritic cells, and suppressive macrophages. Our study provides evidence that the administration of gut commensals may regulate a systemic immune response and may, therefore, have a possible role in treatment strategies for MS.



The Nasal and Gut Microbiome in Parkinson's Disease and Idiopathic Rapid Eye Movement Sleep Behavior Disorder

*Movement Disorders*, Vol. 00, No. 00, 2017

LAS PERSONAS CON **PARKINSON** POSEEN UNA **FLORA INTESTINAL ALTERADA**.

AÑOS ANTES DE QUE EL PARKINSON SE MANIFIESTE LÍNICAMENTE, LA PERSONAS MANIFIESTAN PROBLEMAS INTESTINALES.

PERSONAS CON PARKINSON POSEEN UN MENOR CONTENIDO DE BACTERIAS DEL GÉNERO **PREVOTELLA** ¿ES ESTO CAUSA O CONSECUENCIA?

EXISTE LA POSIBILIDAD DE QUE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON COMIENZE FUERA DEL CEREBRO. Infección nasal y/o gastrointestinal, plegamiento incorrecto de la **alfa-sinucleína**, propagación por las neuronas, su agregación y muerte (cuerpos de Lewy). En EE.UU. SE SUMAN AL AÑO 100.000 PERSONAS CON PARKINSON.

¿ESTÁN EL ALZHEIMER Y EL PARKINSON RELACIONADOS A LAS ENFERMEDADES PRIÓNICAS?



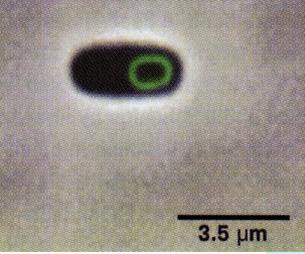
# Normal gut microbiota modulates brain development and behavior

Rochellys Diaz Heijtz<sup>a,b,1</sup>, Shugui Wang<sup>c</sup>, Farhana Anuar<sup>d</sup>, Yu Qian<sup>a,b</sup>, Britta Björkholm<sup>d</sup>, Annika Samuelsson<sup>d</sup>, Martin L. Hibberd<sup>c</sup>, Hans Forsberg<sup>b,e</sup>, and Sven Pettersson<sup>c,d,1</sup>

Departments of <sup>a</sup>Neuroscience, and <sup>d</sup>Microbiology, Cell and Tumor Biology, Karolinska Institutet, 171 77 Stockholm, Sweden; <sup>b</sup>Stockholm Brain Institute, 171 77 Stockholm, Sweden; <sup>c</sup>Genome Institute of Singapore, 02-01 Genome 138672, Singapore; and <sup>e</sup>Department of Women's and Children's Health, Karolinska Institutet, 171 76 Stockholm, Sweden

Edited by Arturo Zychlinsky, Max Planck Institute for Infection Biology, Berlin, Germany, and accepted by the Editorial Board January 4, 2011 (received for review August 11, 2010)

Microbial colonization of mammals is an evolution-driven process that modulate host physiology, many of which are associated with immunity and nutrient intake. **Here, we report that colonization by gut microbiota impacts mammalian brain development and subsequent adult behavior.** Using measures of motor activity and anxiety-like behavior, we demonstrate that germ free (GF) mice display increased motor activity and reduced anxiety, compared with specific pathogen free (SPF) mice with a normal gut microbiota. This behavioral phenotype is associated with **altered expression of genes known to be involved in second messenger pathways and synaptic long-term potentiation in brain regions implicated in motor control and anxiety-like behavior.** GF mice exposed to gut microbiota early in life display similar characteristics as SPF mice, including reduced expression of PSD-95 and synaptophysin in the striatum. Hence, our results suggest that the microbial colonization process initiates signaling mechanisms that affect



# PROBIÓTICOS EN MEDICINA

## Normal gut microbiota modulates brain development and behavior

Rochellys Diaz Heijtz<sup>a,b,1</sup>, Shugui Wang<sup>c</sup>, Farhana Anuar<sup>d</sup>, Yu Qian<sup>a,b</sup>, Britta Björkholm<sup>d</sup>, Annika Samuelsson<sup>d</sup>, Martin L. Hibberd<sup>c</sup>, Hans Forsberg<sup>b,e</sup>, and Sven Pettersson<sup>c,d,1</sup>

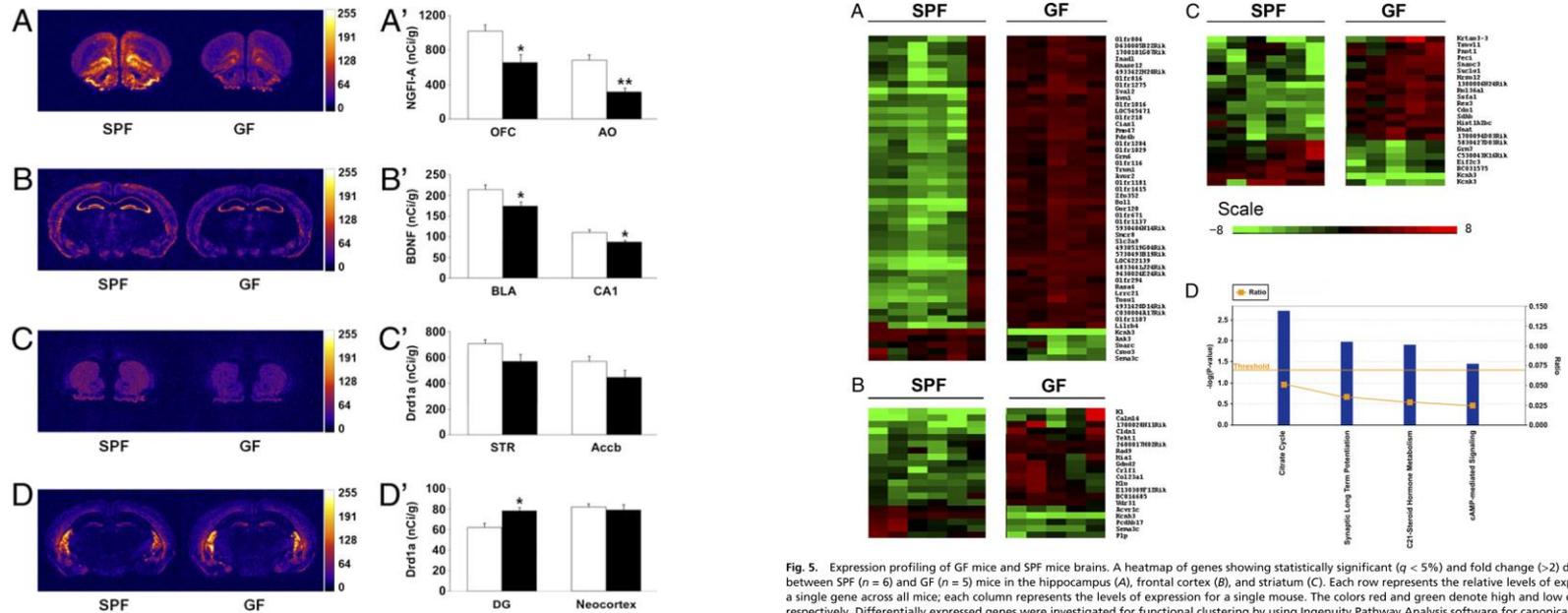
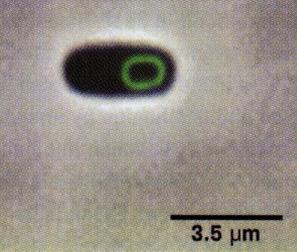


Fig. 5. Expression profiling of GF mice and SPF mice brains. A heatmap of genes showing statistically significant ( $q < 5\%$ ) and fold change ( $>2$ ) differences, between SPF ( $n = 6$ ) and GF ( $n = 5$ ) mice in the hippocampus (A), frontal cortex (B), and striatum (C). Each row represents the relative levels of expression of a single gene across all mice; each column represents the level of expression for a single mouse. The colors red and green denote high and low expression, respectively. Differentially expressed genes were investigated for functional clustering by using Ingenuity Pathway Analysis software for canonical pathways (D), as described in *Experimental Procedures*.

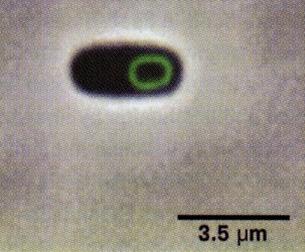
DENTRO DE LA FLORA COMENSAL ESTÁN LOS PROBIÓTICOS



**¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?**

**POR LO TANTO, ES MUY DIFÍCIL NO ESTAR A FAVOR DE LOS PROBIÓTICOS**

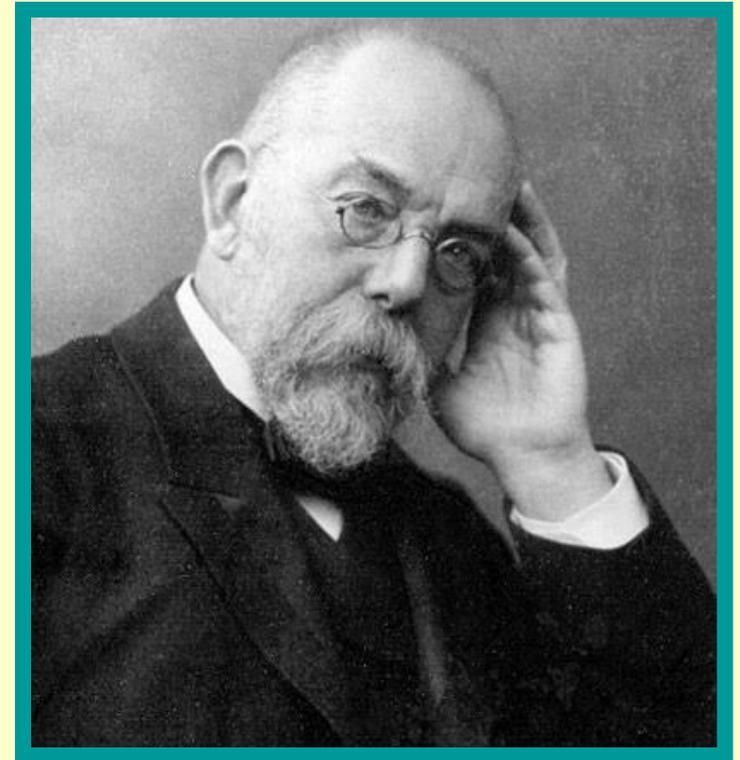
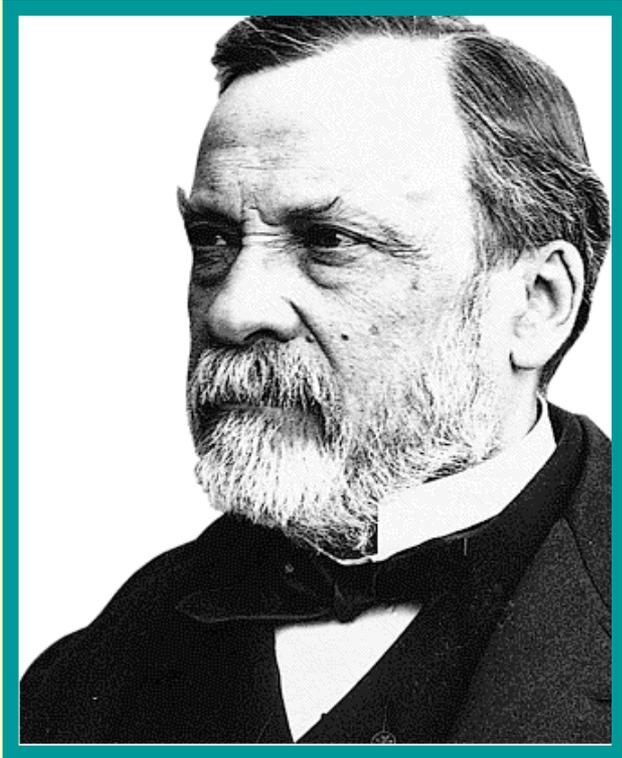
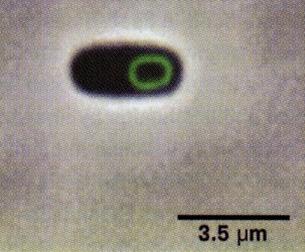
**LA FLORA INTESTINAL CONSTITUYE LA CUARTA HERIDA AL NARCICISMO DE LA HUMANIDAD**

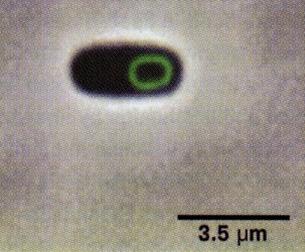


# ¿ CUÁLES SON ALGUNOS “INCONVENIENTES” DE LOS PROBIÓTICOS TRADICIONALES ?

- **VIDA MEDIA EN EL ESTANTE  
(SUPERVIVENCIA DEL PROBIÓTICO)**
- **INFRAESTRUCTURA DE CADENA DE  
FRÍO**
- **ACEPTABILIDAD DEL PRODUCTO**
- **COSTO (PRECIO)**
- **¿CUÁNTO PROBIÓTICO DEBO CONSUMIR?**

# LA ERA DORADA DE LA MICROBIOLOGÍA (SIGLO XIX)





# ESPORAS PROBIÓTICAS: SUS PRECURSORES (SIGLO XXI)

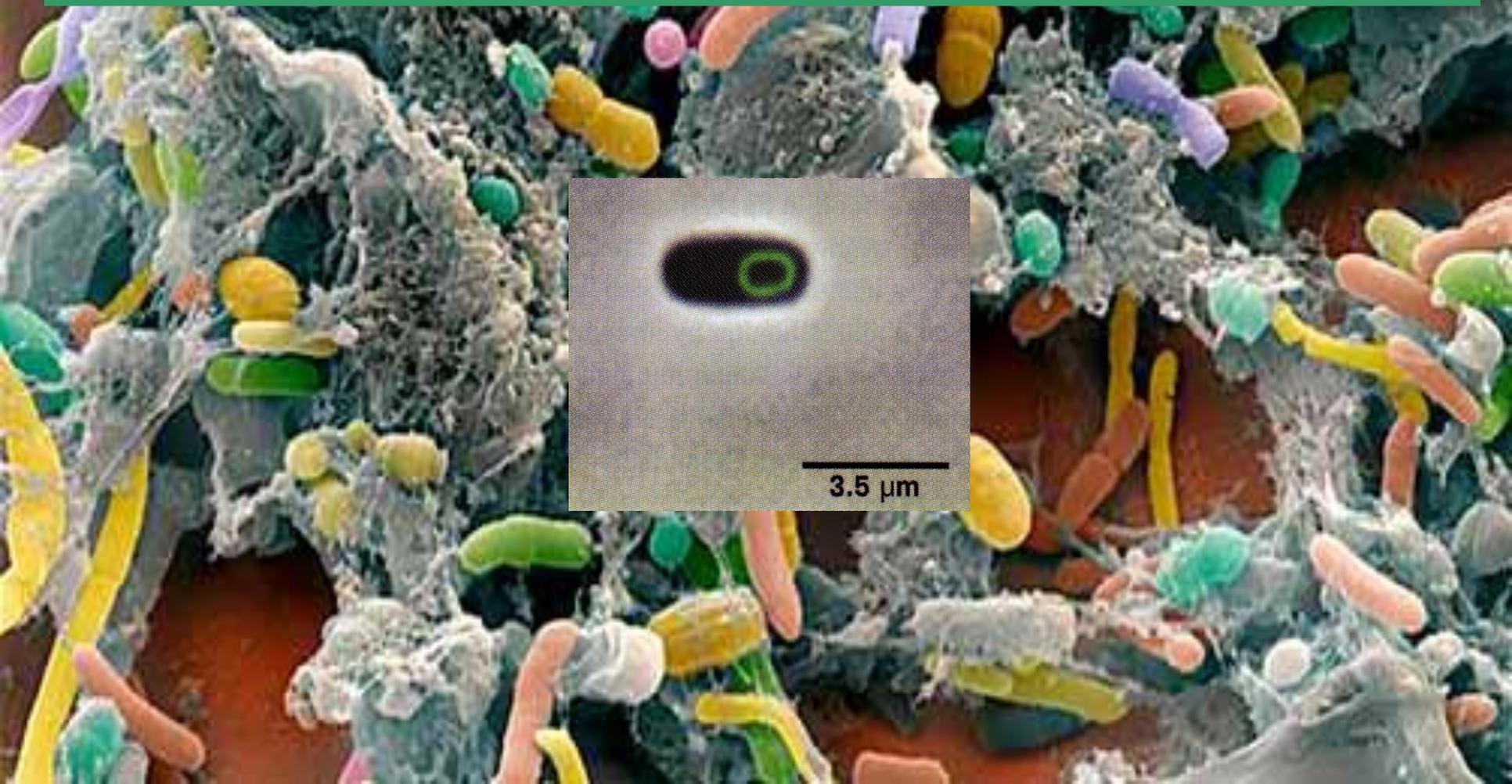


**Linc Sonenshein**  
**Tufts University**  
**Boston - USA**



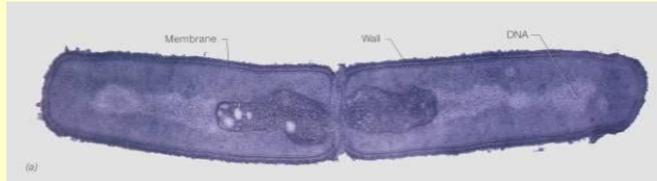
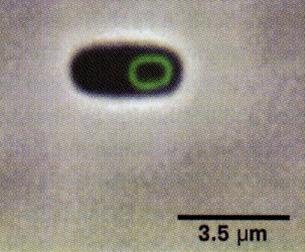
**Simon Cutting**  
**Royal Holloway University of London**  
**UK**

**UNA NUEVA ALTERNATIVA:  
BACTERIAS FORMADORAS DE **ESPORAS**  
COMO PROBIÓTICOS DE NUEVA GENERACIÓN  
***BACILLUS SUBTILIS*****

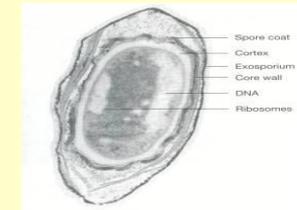
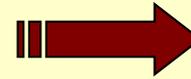


# UNA NUEVA ALTERNATIVA: LAS BACTERIAS FORMADORAS DE ESPORAS COMO PROBIÓTICOS DE NUEVA GENERACIÓN

## *BACILLUS SUBTILIS*



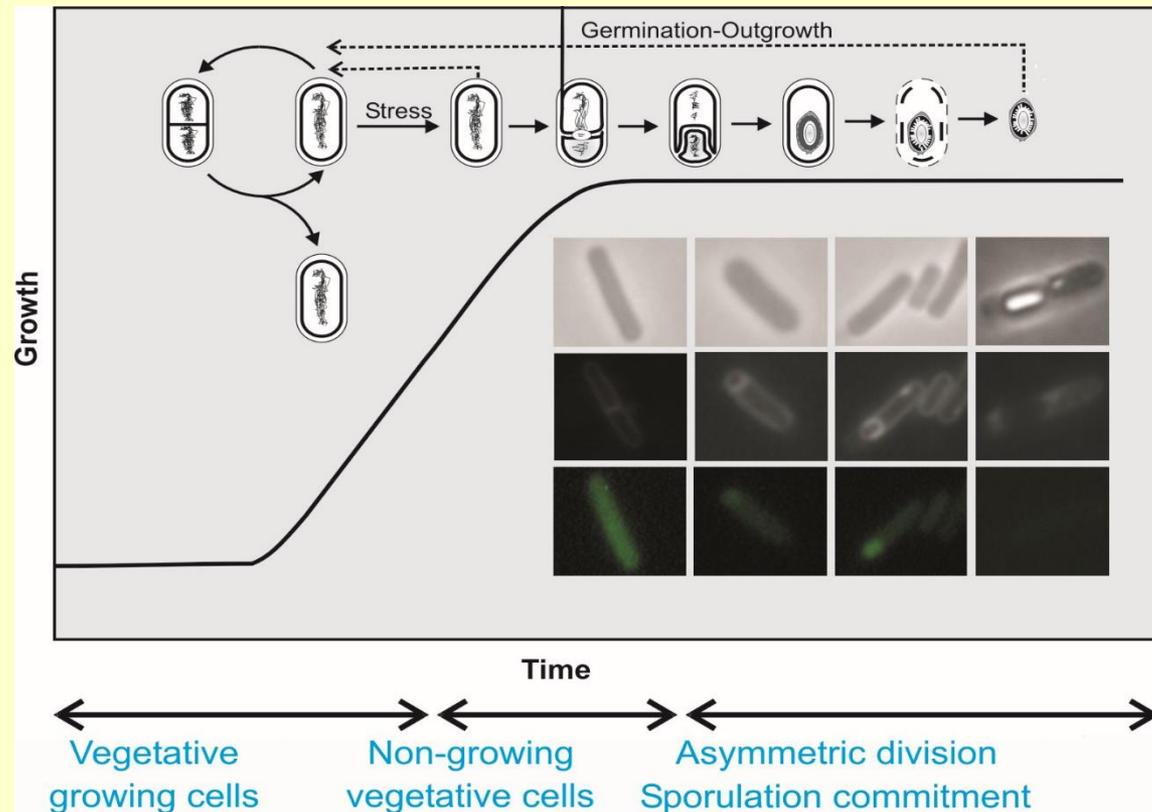
HAMBREADO

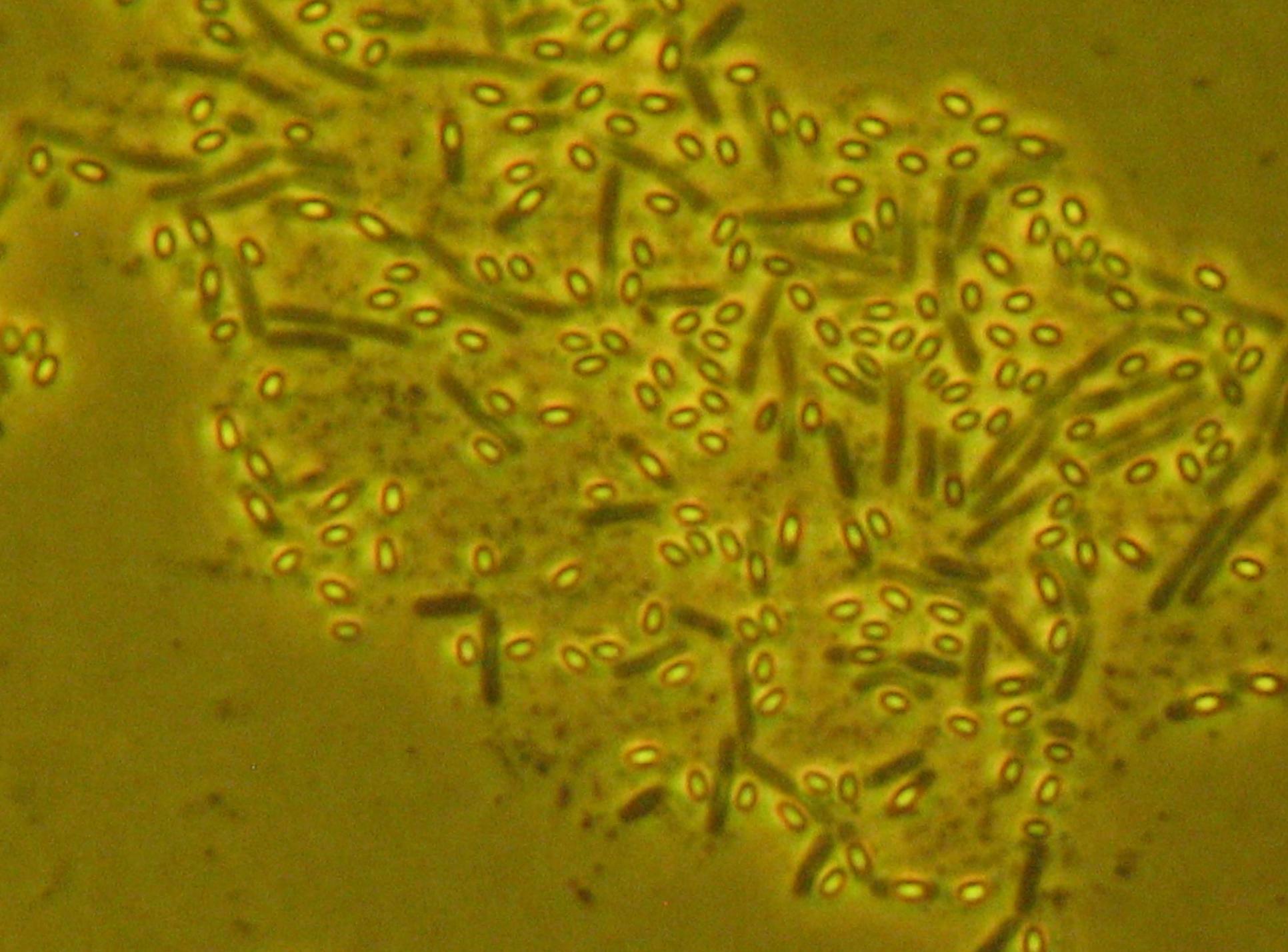


CÉLULA VEGETATIVA

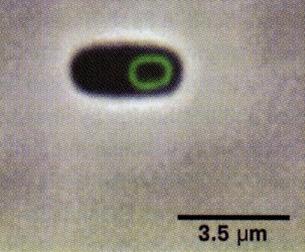
DESARROLLO

ESPORA

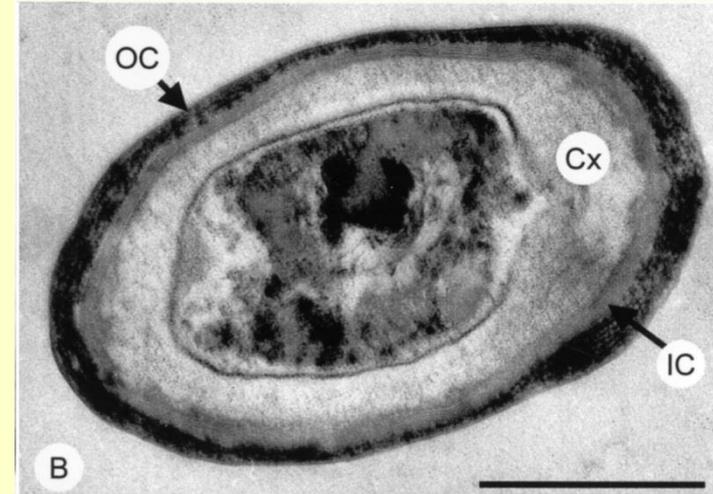




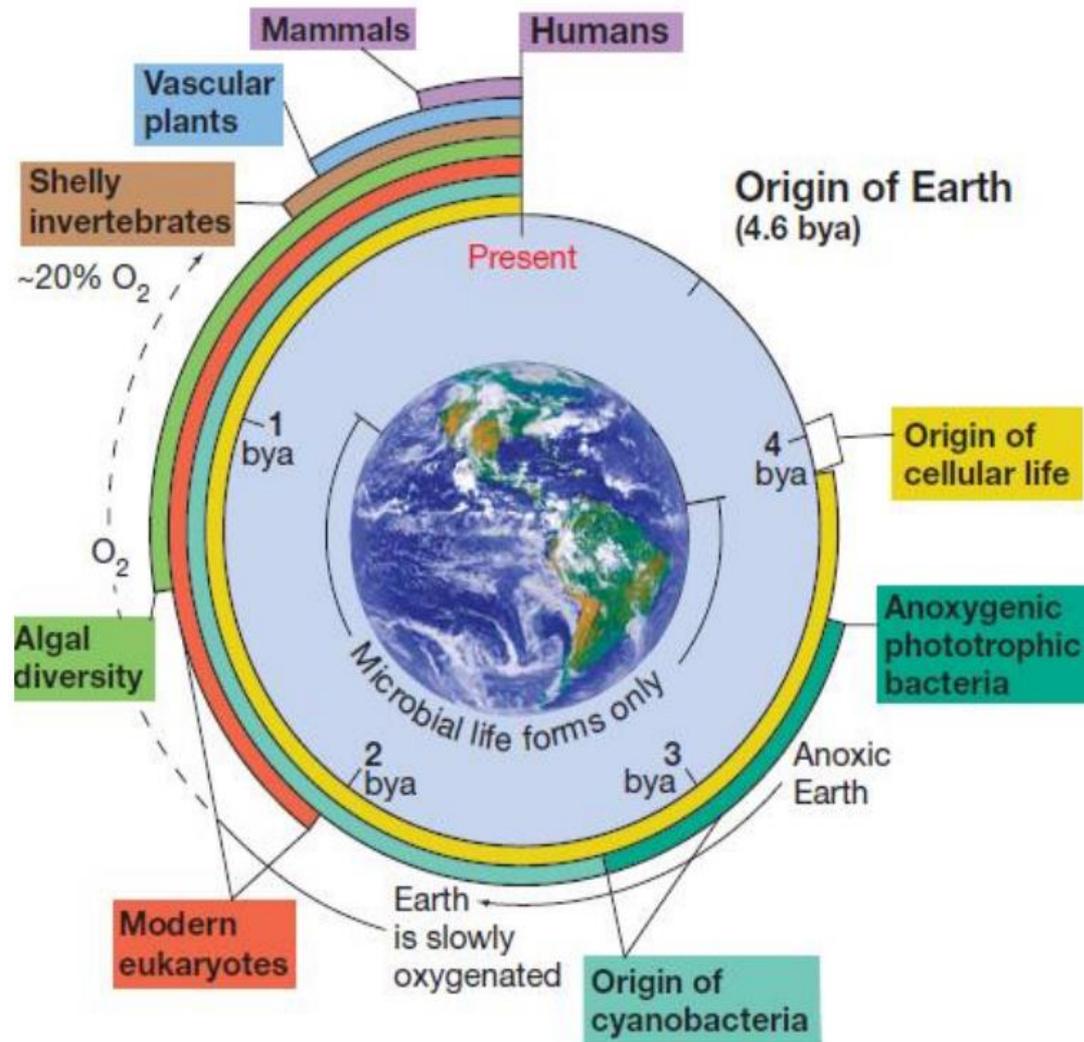
# ALGUNAS PROPIEDADES DE LAS ESPORAS BACTERIANAS



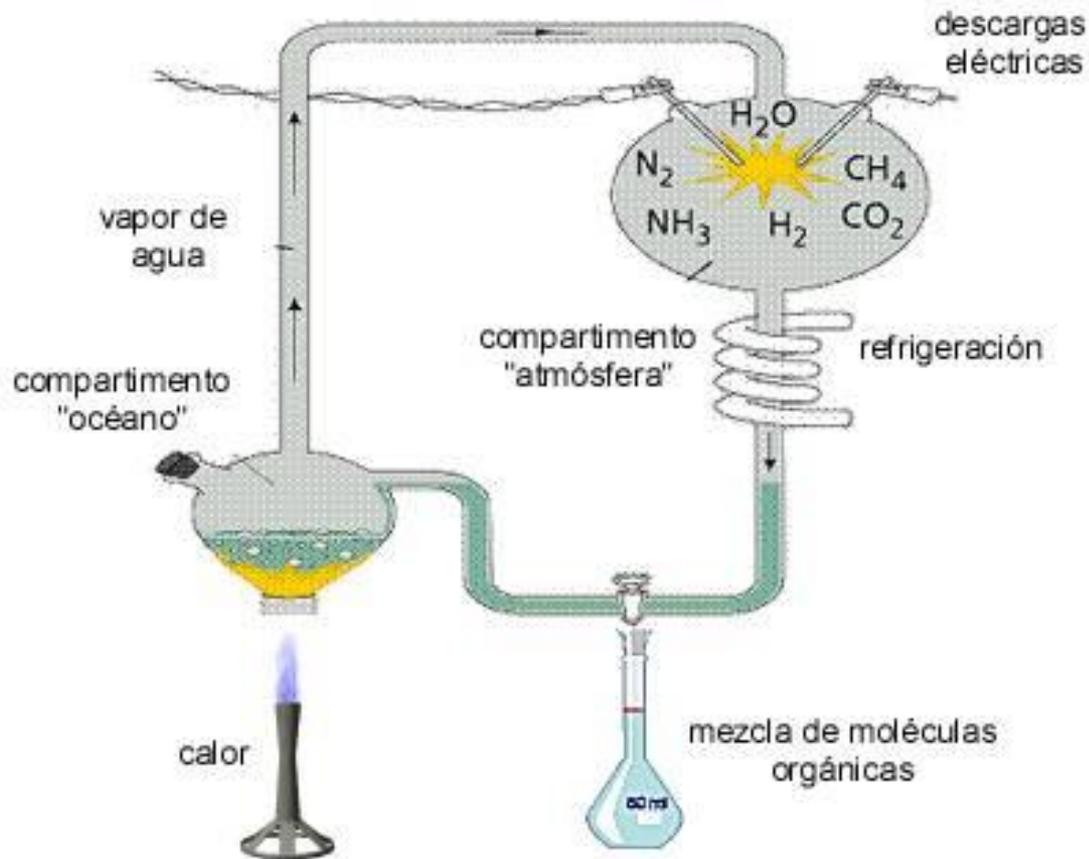
- Resistencia a las temperaturas extremas,
- Resistencia a la desecación y la presión,
- Resistencia a los cambios de pH y salinidad,
- Resistencia a la radiación UV y solar,
- Resistencia a los procesos industriales de fabricación,
- Resistencia a los ataques por enzimas y detergentes,
- 100% durmientes, metabolismo cero, agua cero, actividad enzimática cero,
- Alta longevidad (las esporas bacterianas son prácticamente inmortales e indestructibles)

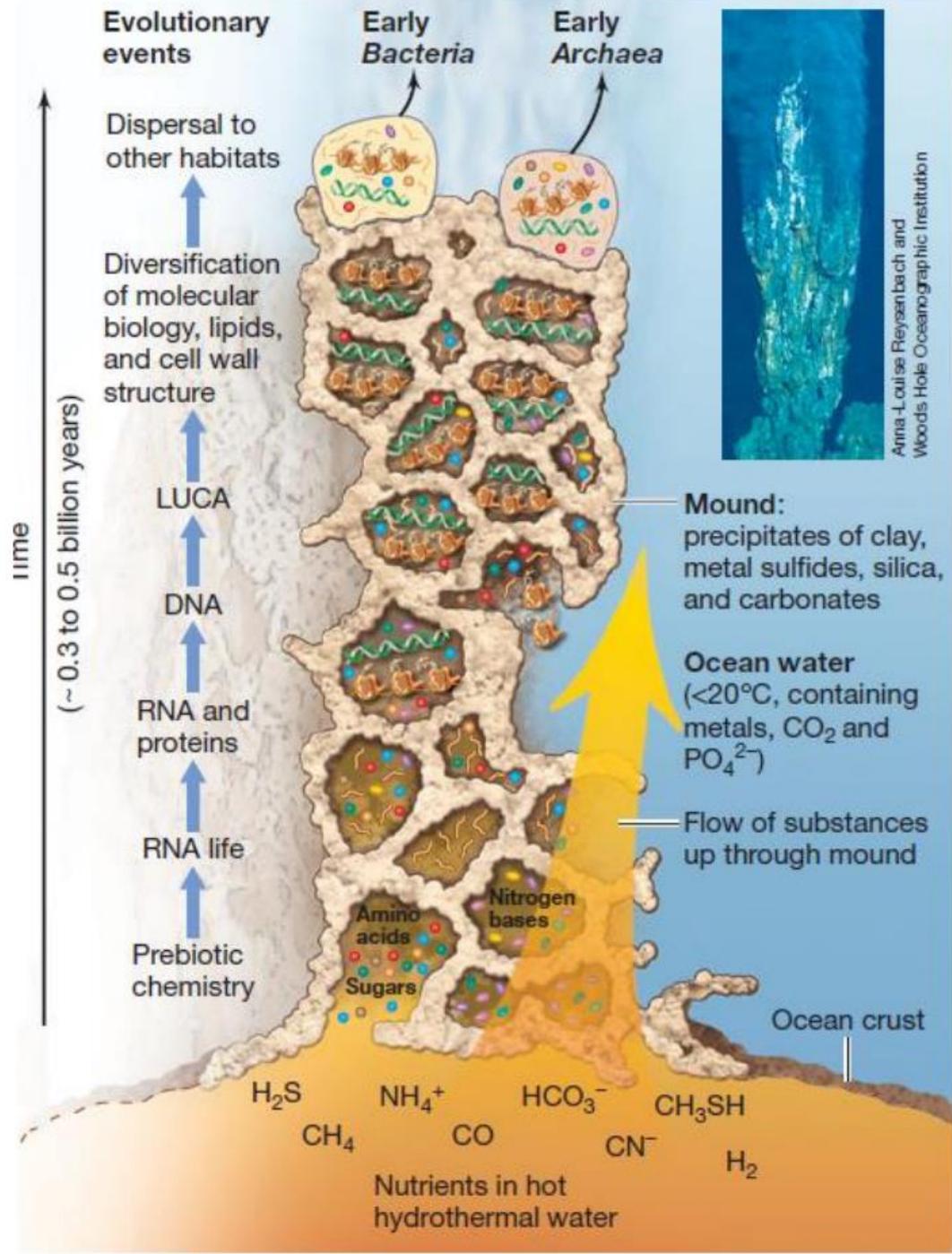


# Vida en la Tierra a través del tiempo



# -TEORÍA DE OPARÍN Y HALDANE





Anna-Louise Reyserbach and Woods Hole Oceanographic Institution

**OTRA HIPÓTESIS**

**LA LITOPANSERMIA**



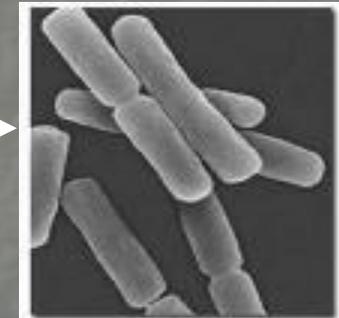
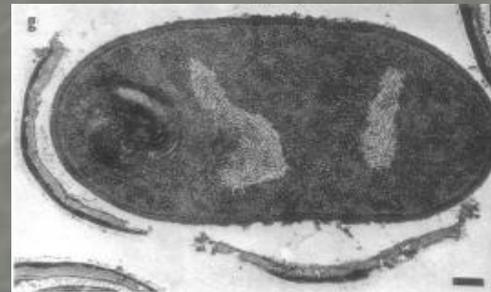
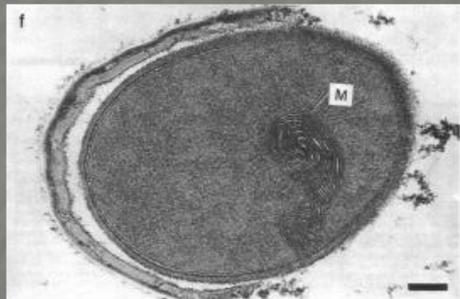
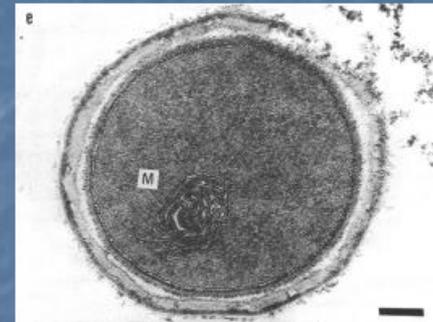
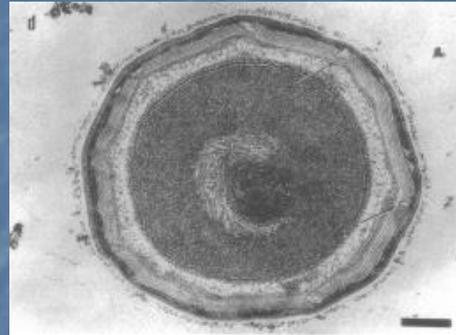
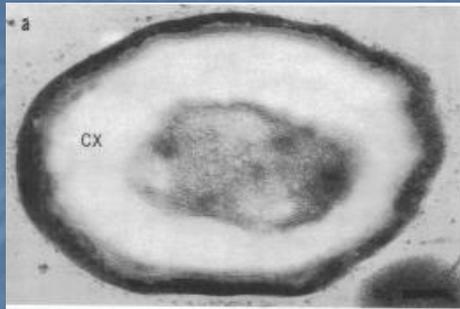
## Resistance of *Bacillus* Endospores to Extreme Terrestrial and Extraterrestrial Environments

WAYNE L. NICHOLSON,<sup>1\*</sup> NOBUO MUNAKATA,<sup>2</sup> GERDA HORNECK,<sup>3</sup>  
HENRY J. MELOSH,<sup>4</sup> and PETER SETLOW<sup>5</sup>

*Department of Veterinary Science and Microbiology<sup>1</sup> and Lunar and Planetary Laboratory,<sup>4</sup> University of Arizona, Tucson, Arizona 85721; Radiobiology Division, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan 104-6345<sup>2</sup>; Radiobiology Section, DLR, Institute of Aerospace Medicine, Cologne, Germany<sup>3</sup>; and Department of Biochemistry, University of Connecticut Health Centre, Farmington, Connecticut 06032<sup>5</sup>*

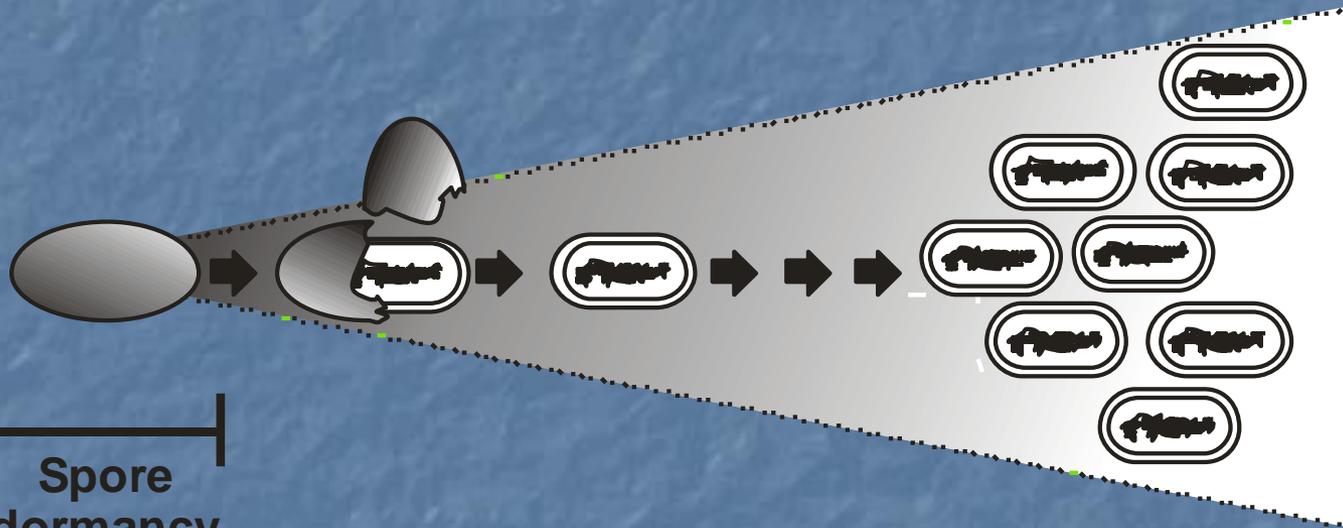
# GERMINATION

(MECHANICAL AND ENZYMATIC PROCESS)



# OUTGROWTH

(METABOLIC REACTIVATION WITH *DE NOVO* SYNTHESIS)

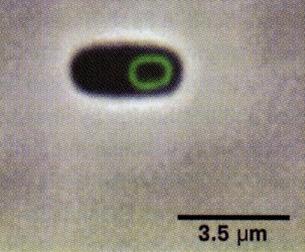


**SPORE PANSPERMIA**

Spore dormancy

Spore germination

Spore outgrowth



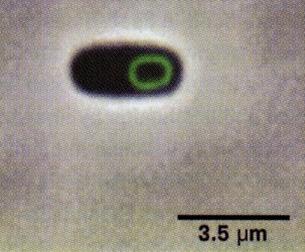
# INCONVENIENTES SOLUCIONADOS

➤ **VIDA MEDIA EN EL ESTANTE** ✓

➤ **CADENA DE FRÍO** ✓

➤ **ACEPTABILIDAD DEL PRODUCTO** ✓

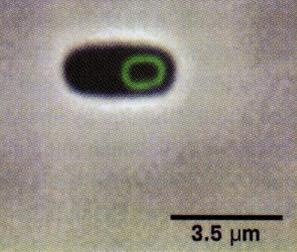
➤ **COSTO O PRECIO** ✓



# OTRAS PROPIEDADES DE LAS ESPORAS BACTERIANAS

**ADEMÁS**

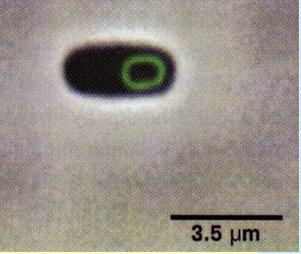
***B. SUBTILIS...***



# ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?

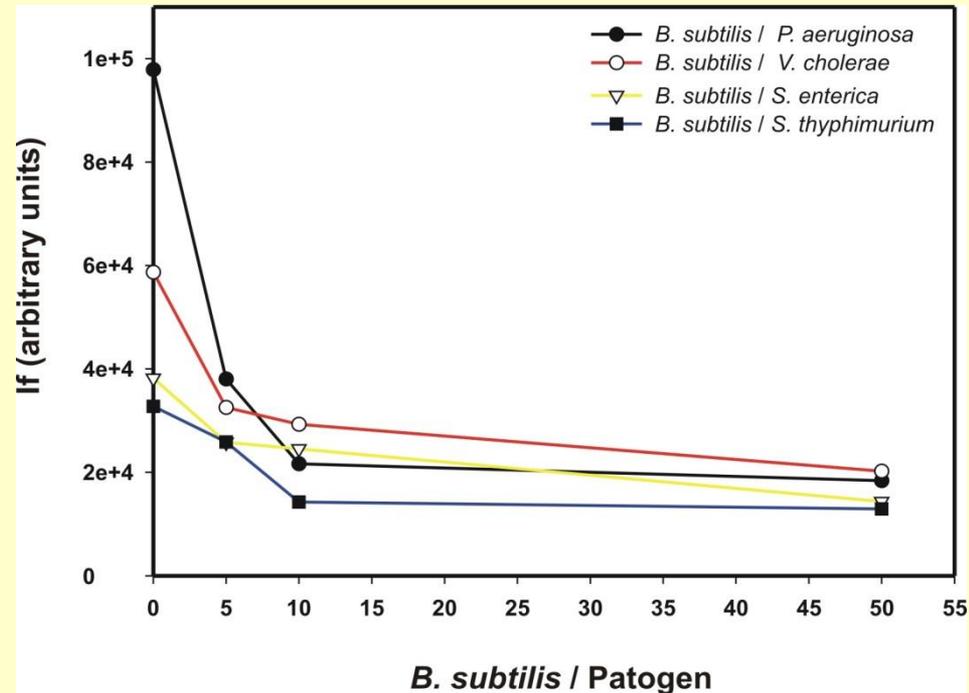
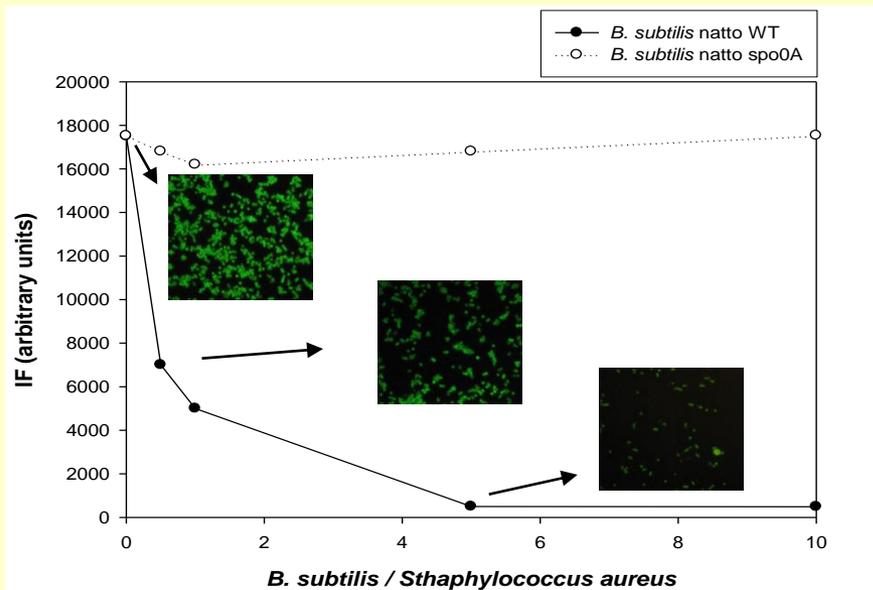


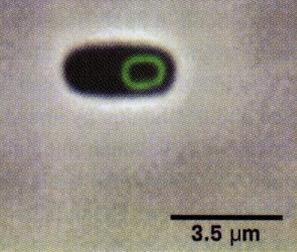
**The *Bacillus subtilis* Quorum-Sensing Molecule CSF Contributes to Intestinal Homeostasis via OCTN2, a Host Cell Membrane Transporter**



# ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?

***B. Subtilis* inhibe competitivamente la adherencia de patógenos humanos a mucosas**

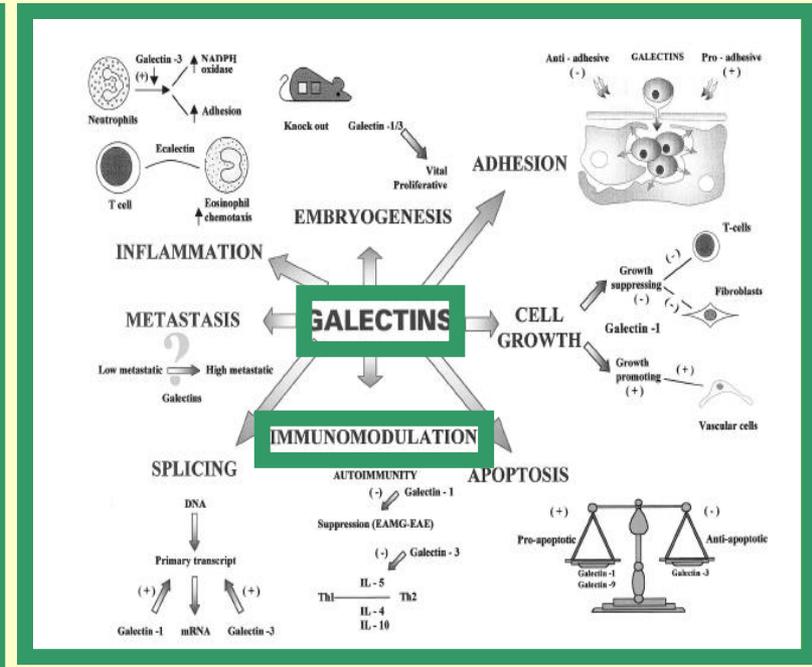
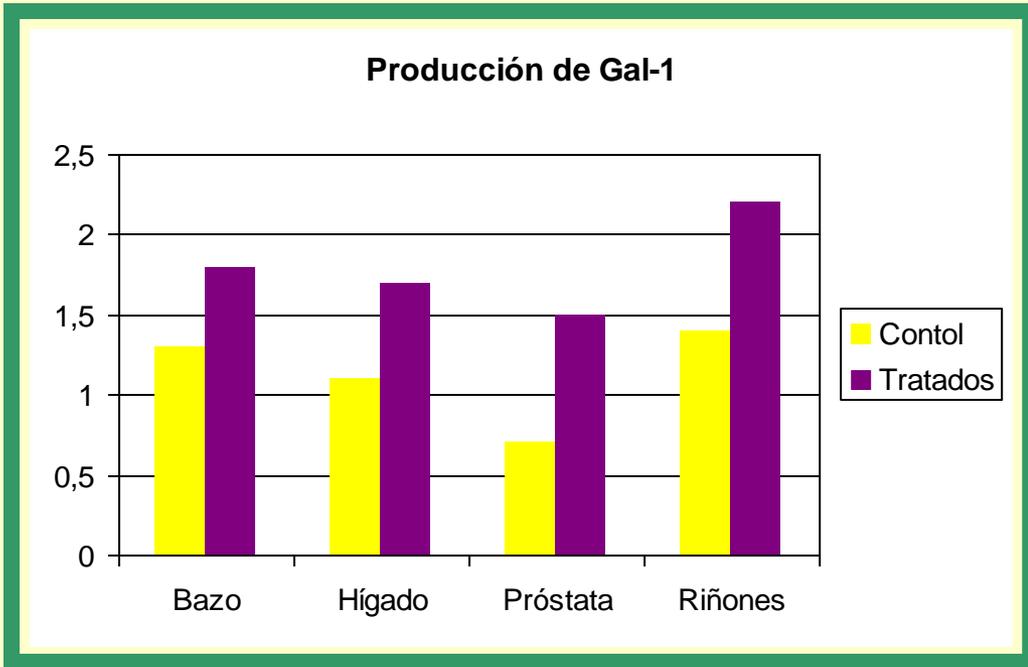


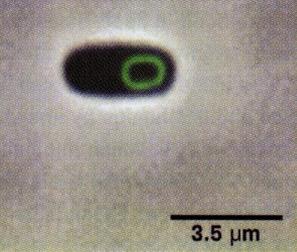


# ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?



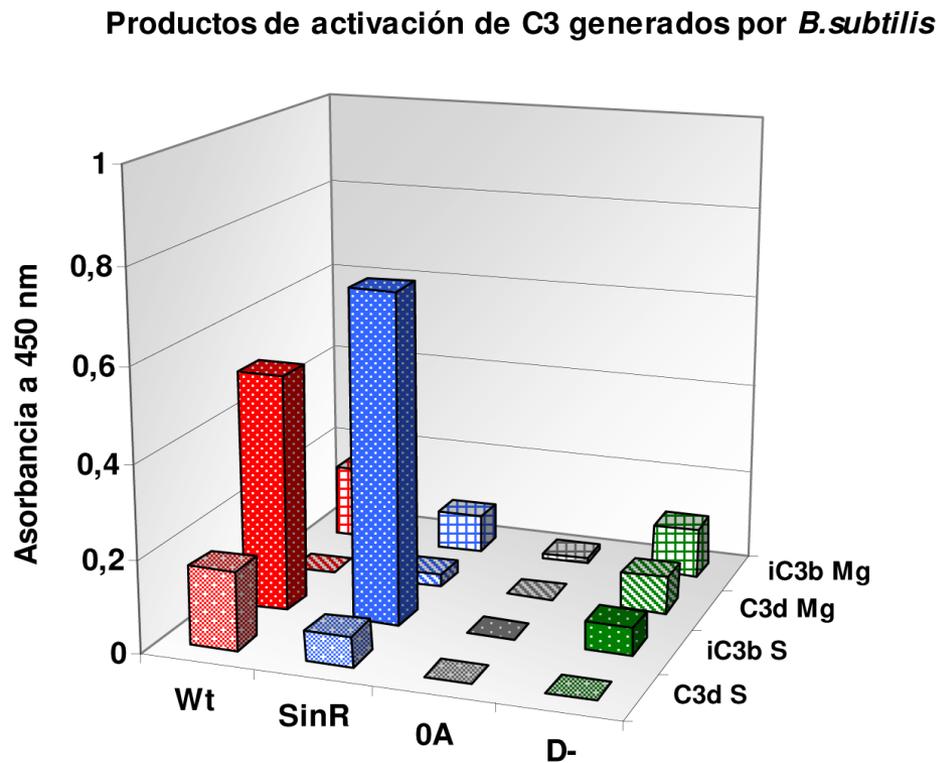
## B. Subtilis induce la producción de Galectina-1 en órganos

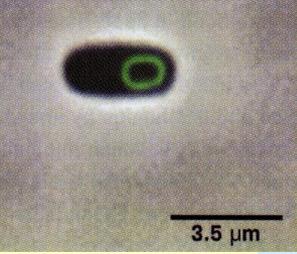




# ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?

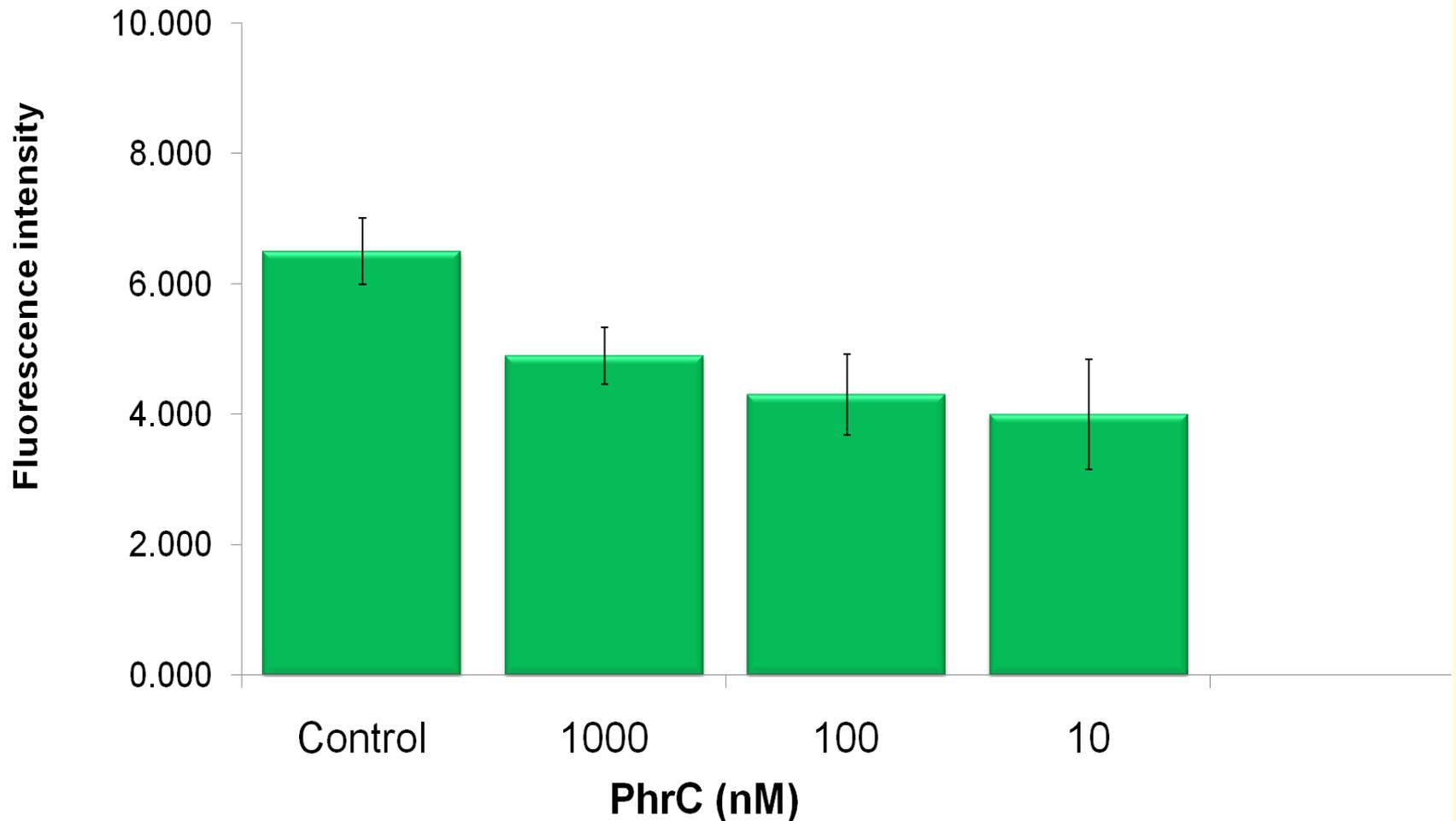
***B. SUBTILIS* ACTIVA LAS TRES VÍAS DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO A TRAVÉS DEL REGULADOR MAESTRO DE LA EXPRESIÓN DE GENES LA PROTEÍNA Spo0A**

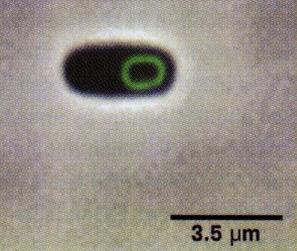




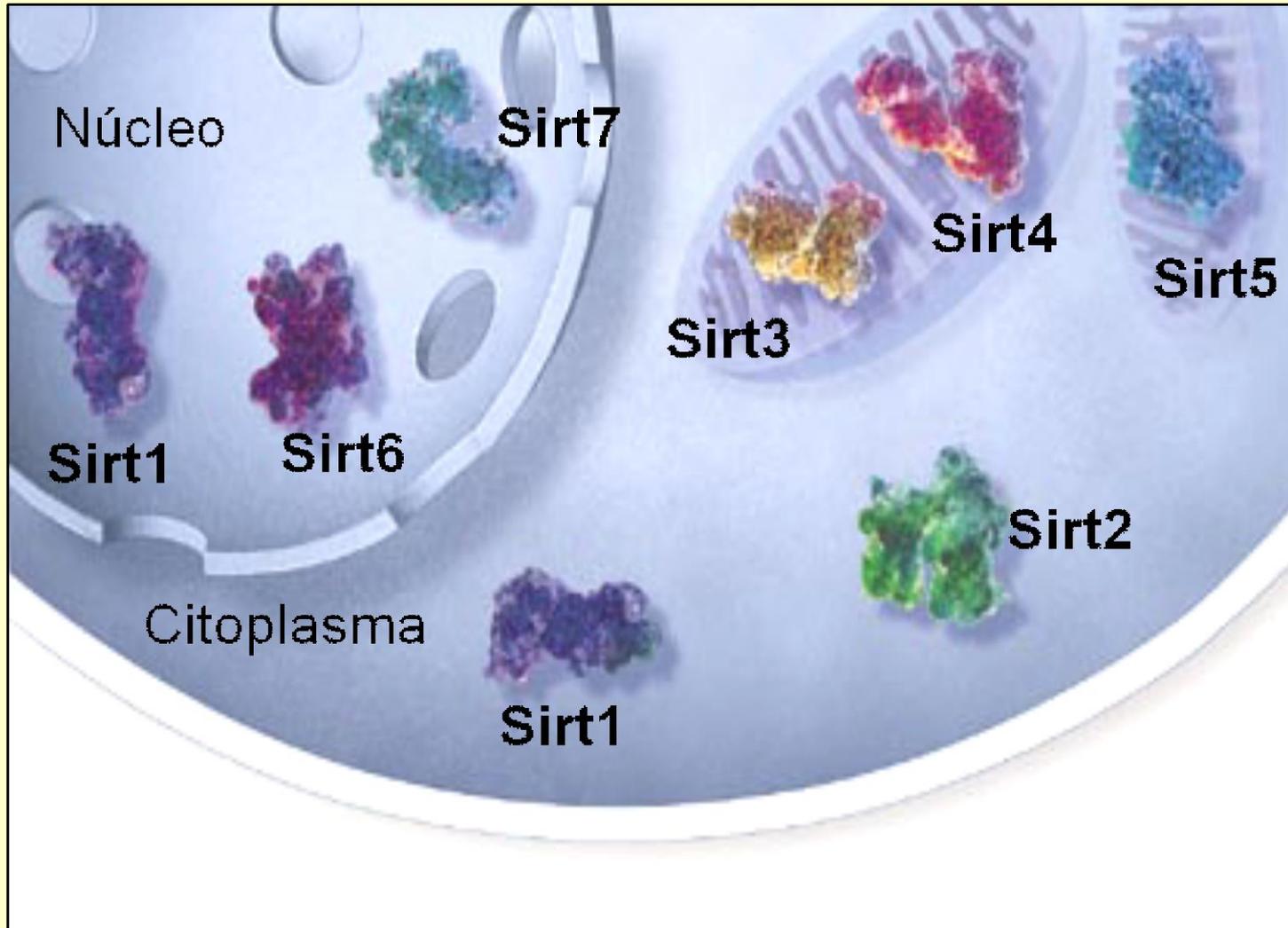
# ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?

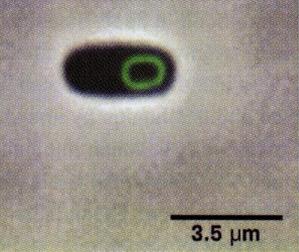
***B. SUBTILIS* DISMINUYE LA GENERACIÓN DE ROS EN NEURONAS DE CEREBELO ¿AUMENTO DEL LIFESPAN?**





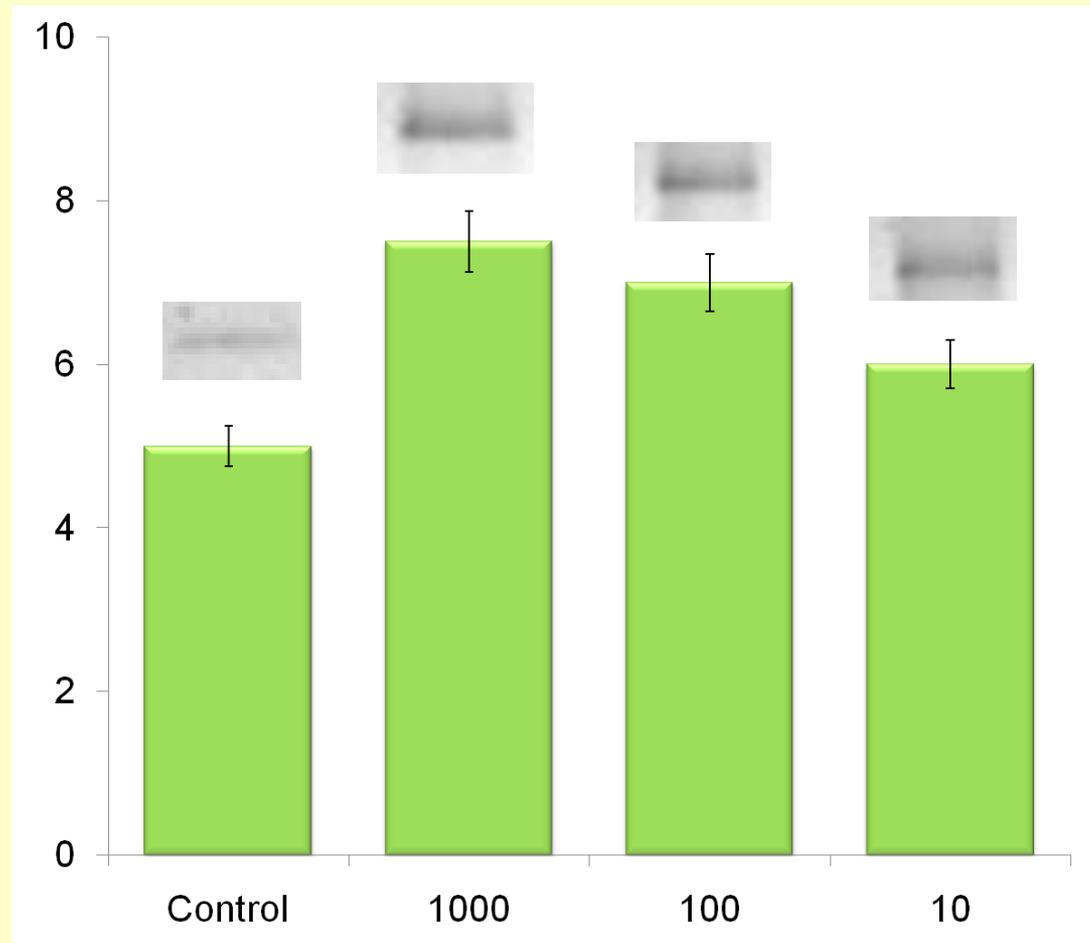
# ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?

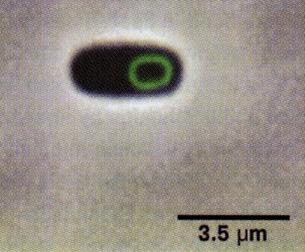




# ¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?

***B. Subtilis* estimula la producción de Sirt7 en cultivo de neuronas**





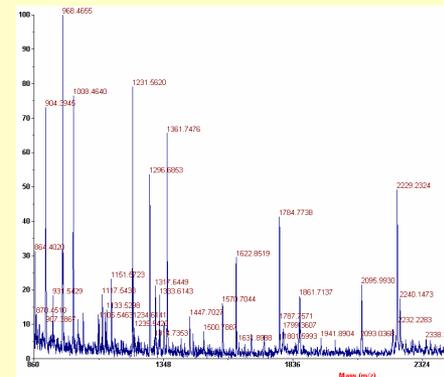
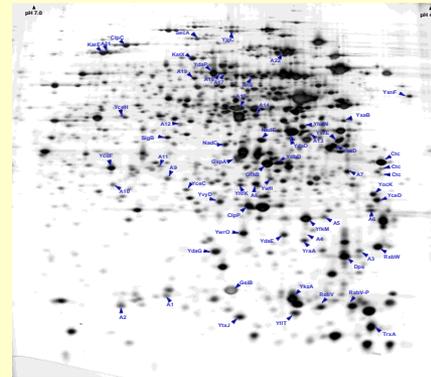
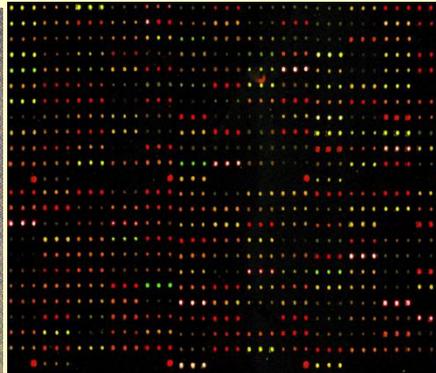
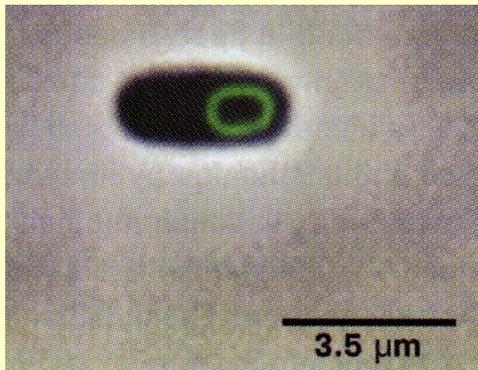
# CONOCIMIENTO Y DOMINIO DE TODAS LAS **OMICAS** DE *B. SUBTILIS* DENTRO DE UNA PERSPECTIVA FISIOLÓGICA

ADN

ARN

Proteínas

Metabolitos



Gen**ómica**

Transcript**ómica**

Prote**ómica**

Metabol**ómica**

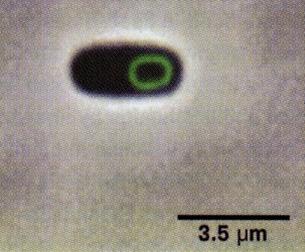
bioinformática

¿Qué podría posiblemente ocurrir ?

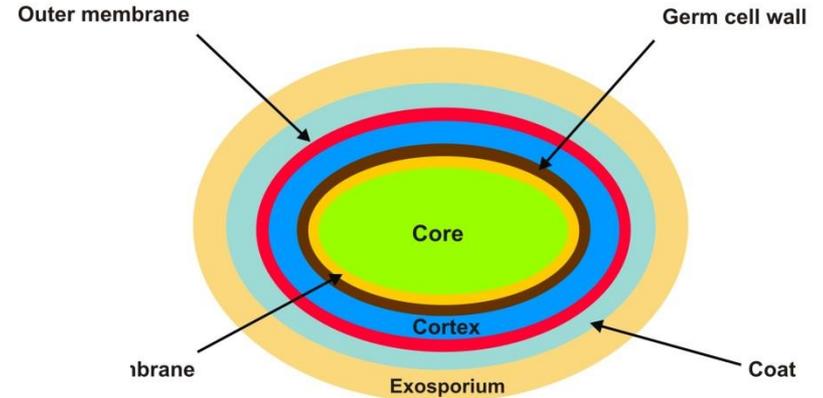
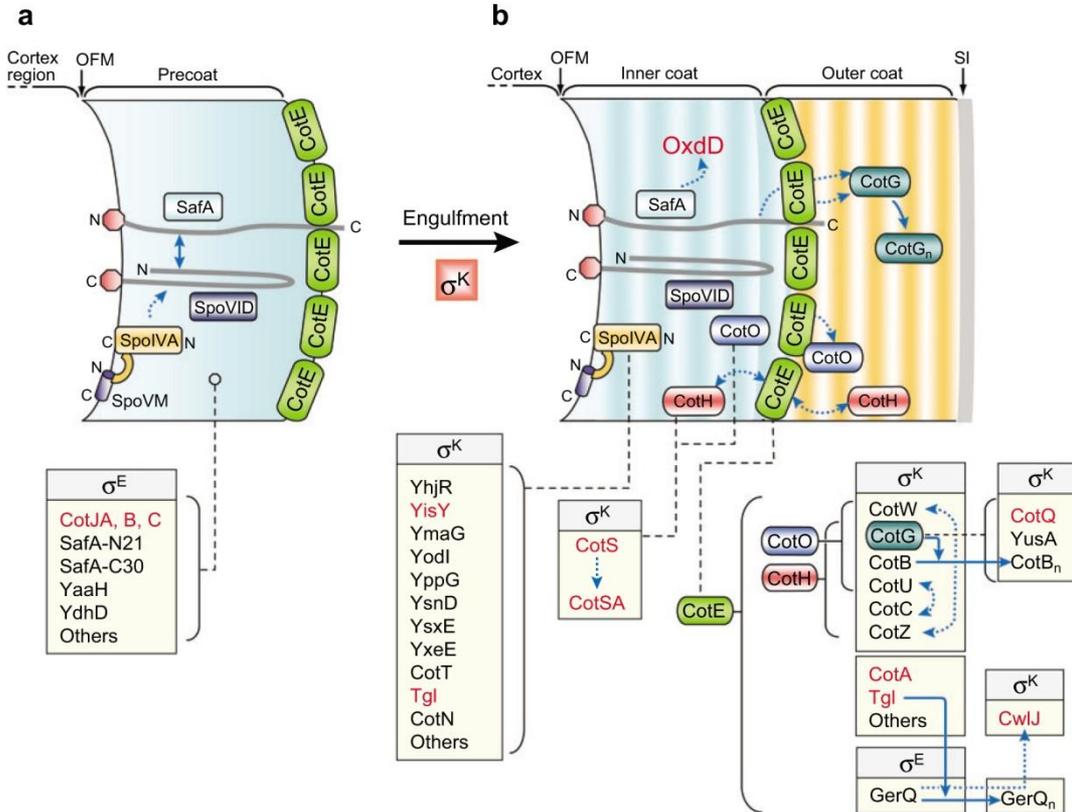
¿Qué ha ocurrido aparentemente?

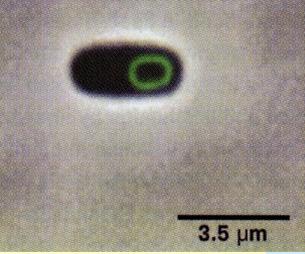
¿Qué es lo que hace que esto ocurra?

¿Qué ha ocurrido?

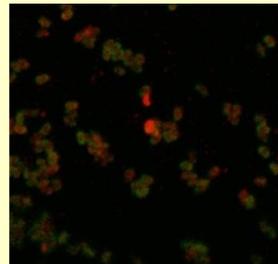
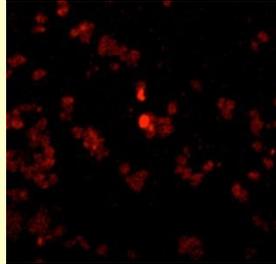
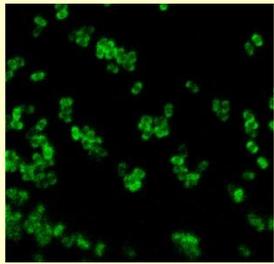


# ALGUNAS OTRAS PROPIEDADES DE LAS ESPORAS LAS PROTEÍNAS DE LA CUBIERTA





# ADSORCIÓN DE VIRIONES INACTIVADOS DE H5N1 EN ESPORAS



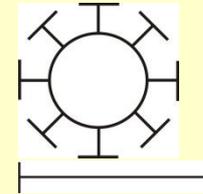
Esporas-FICT

NIBRG-14-TMR

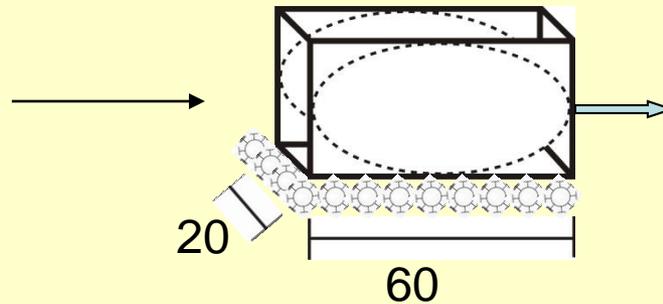
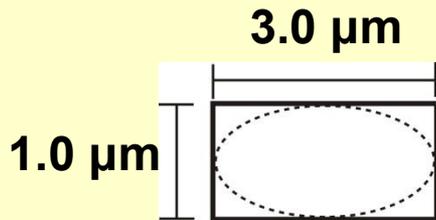
Superposición

Song, Cutting et al., Vaccine: 2012

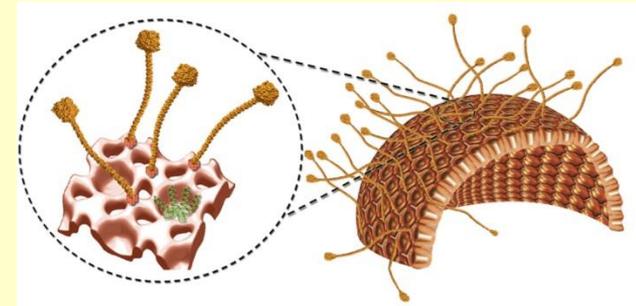
Virus H5N1



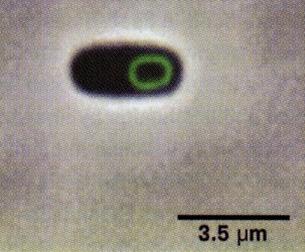
50 nm (0.05 μm)



**5600 virus / espora**

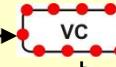
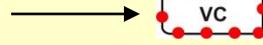


**ESPORAS COMO VACUNAS MUCOSALES CON PROPIEDADES ADYUVANTES INTRÍNSECAS CONTRA INFLUENZA**



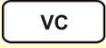
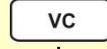
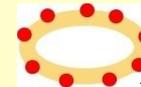
# ESPORAS PROBIÓTICAS COMO ADYUVANTES, INMUNOPOTENCIADORES, INMUNOMODULADORES Y COMO VACUNAS NO-REFRIGERADAS MUCOSALES

1- Espora viva



Antígeno expresado en la membrana de la Célula Vegetativa

2- Espora viva



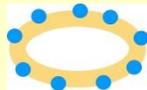
Antígeno expresado en la superficie de la espora

3- Espora viva



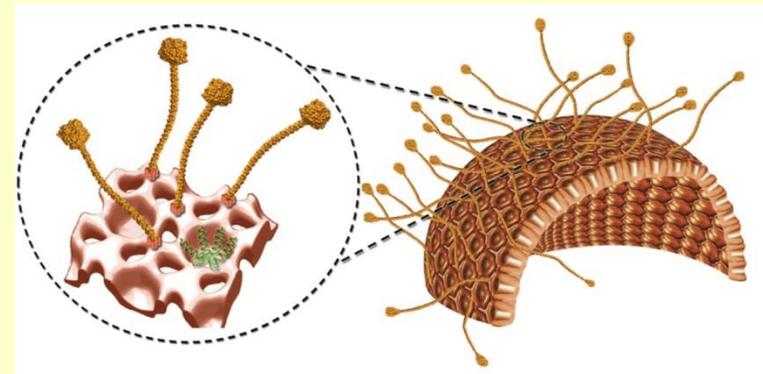
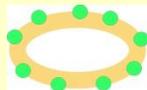
Antígeno expresado tanto en la espora como en la célula vegetativa

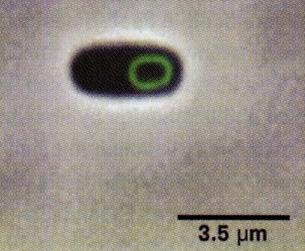
4- Espora muerta



Antígeno expresado en la superficie de la espora

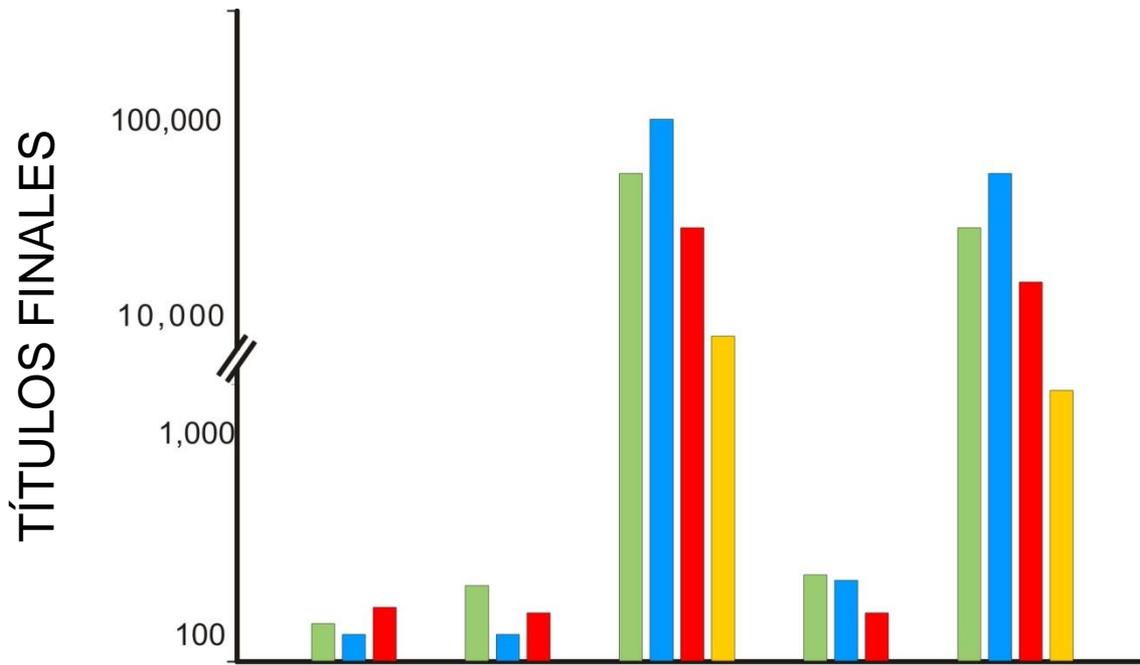
5- Espora muerta o viva con el antígeno adsorbido



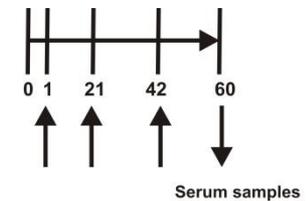


# VACUNACIÓN POR VÍA NASAL CON ESPORAS RECOMBINANTES Ó CON ANTÍGENO ADSORBIDO

## Vacunación contra Anthrax

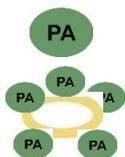


## Producción de Ac específicos contra PA



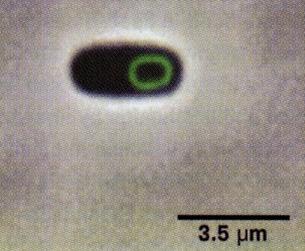
Ruta intranasal

Adaptado de Huang, Cutting et al., 2010



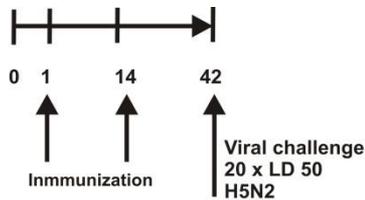
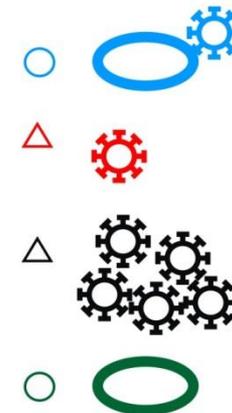
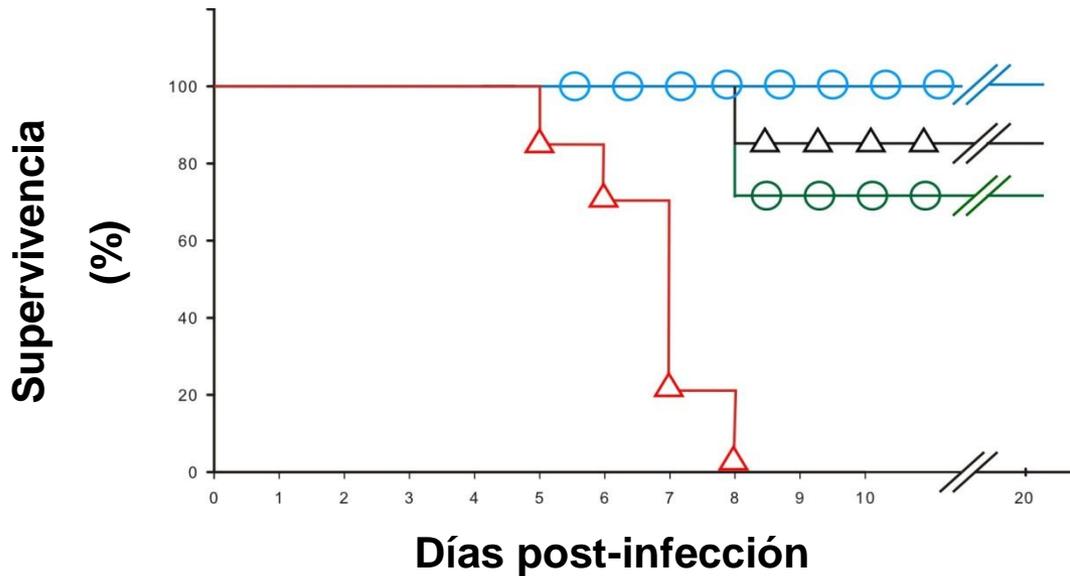
Espora recombinante (amyE::cotB-GST-Cpa)

- IgG
- IgG1
- IgG2a
- sIgA (pulmón)



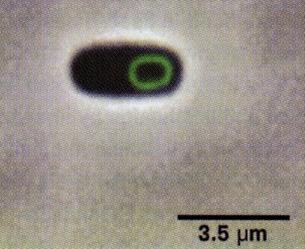
# IMMUNIZACIÓN CONTRA INFLUENZA (H5N1) CON ESPORAS CON Ag ADSORBIDOS

Experimento de protección contra desafíos con dosis letales (**20 x LD50**) de influenza (H5N2)



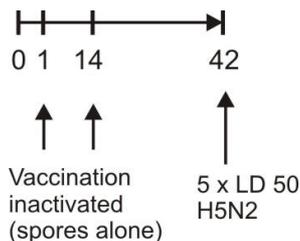
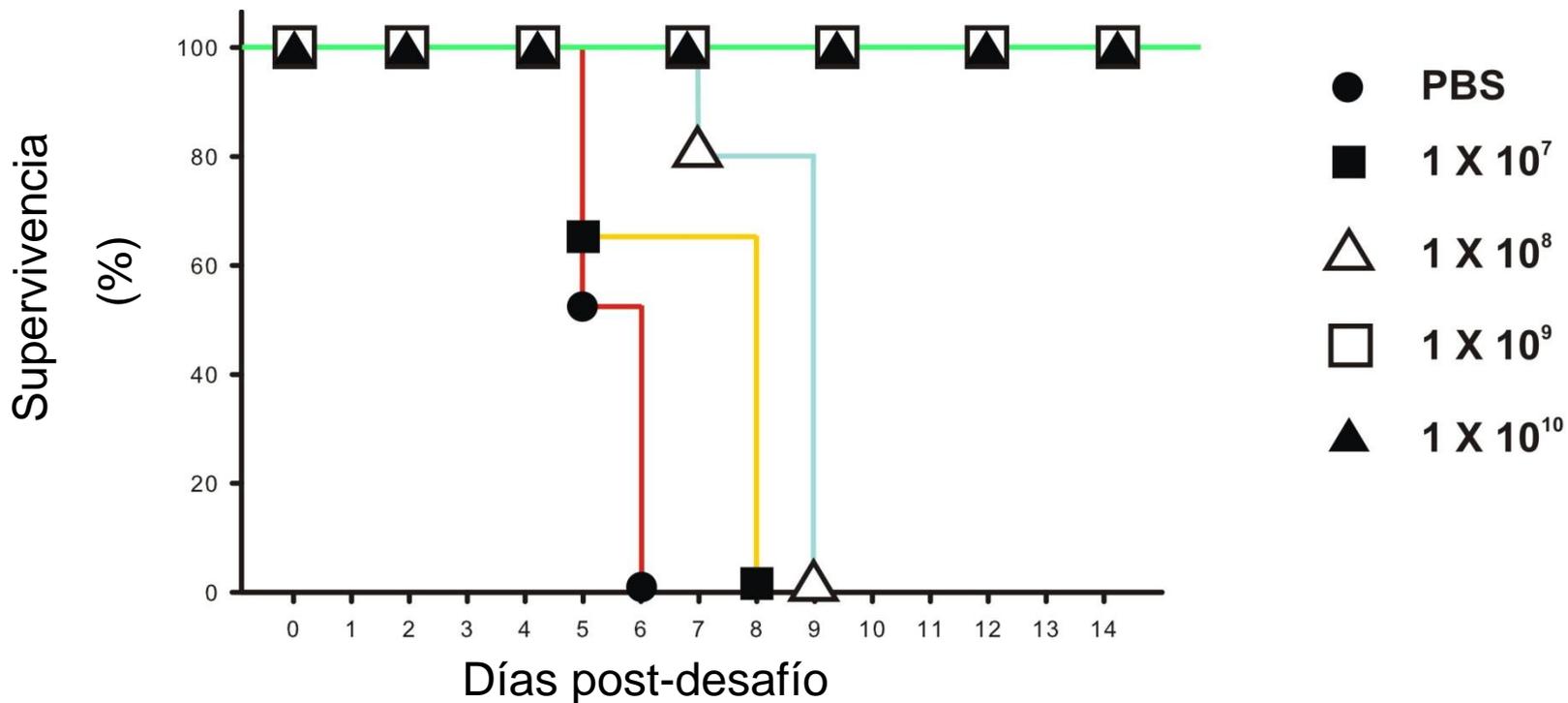
Adaptado de Song M., Cuttings S.M. et al  
Vaccine: 2012

NIBRG-14 inactivado  
Y / o esporas

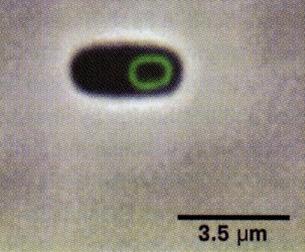


# IMMUNIZACIÓN CONTRA INFLUENZA (H5N2) CON ESPORAS SOLAMENTE

Protección brindada por esporas desnudas contra (5 x LD50) de virus H5N2

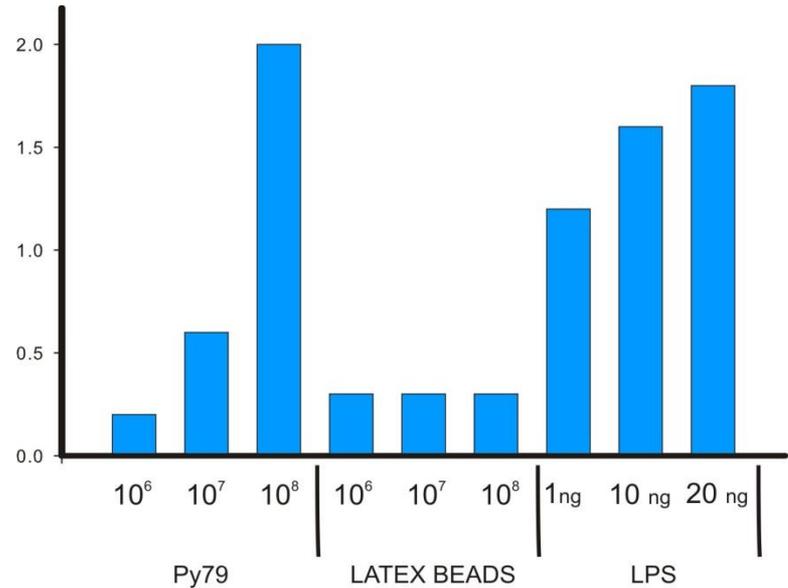
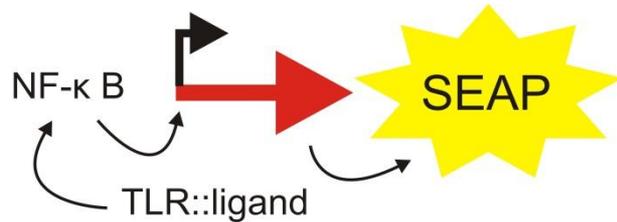


**LA IMPORTANCIA DE LA ESTIMULACIÓN DE LA INMUNIDAD INNATA  
PARA PREVENIR INFECCIONES**



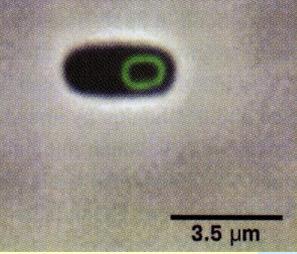
# INDUCCIÓN TLR (“Toll-Like Receptor”) DEPENDIENTE DE NF-KB POR ESPORAS

Línea celular de macrófagos murinos  
Raw blue de INVITROGEN



Las esporas  
también inducen

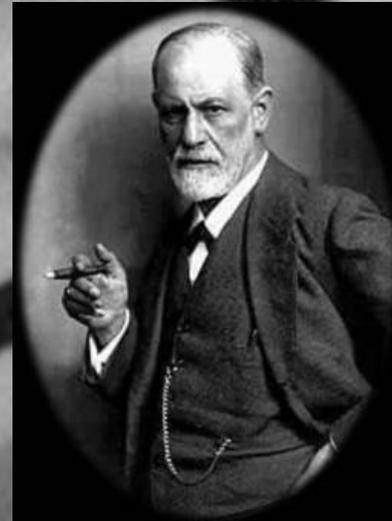
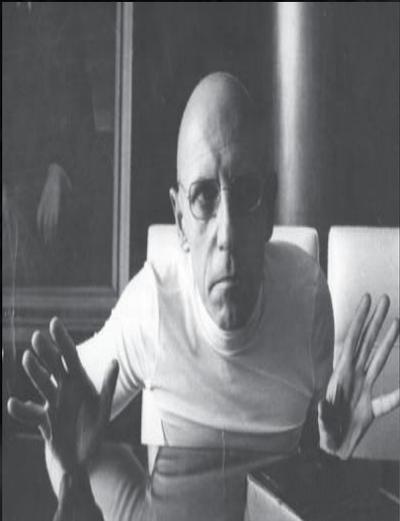
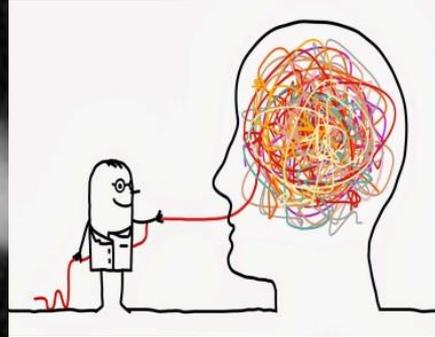
- Maduración de las Dc
- Reclutamiento de células NK en las vías aéreas
- Expresión de TLRs (TLR2, TLR4)
- Proliferación celular en las Placas de Peyer
- Desarrollo del Tejido Linfoideo Asociado a Intestino (GALT)
- Diversificación somática de los genes IgM VDJ -C<sub>μ</sub> de células B



**¿CUÁLES SON LOS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS?**

**Y AÚN MÁS...**

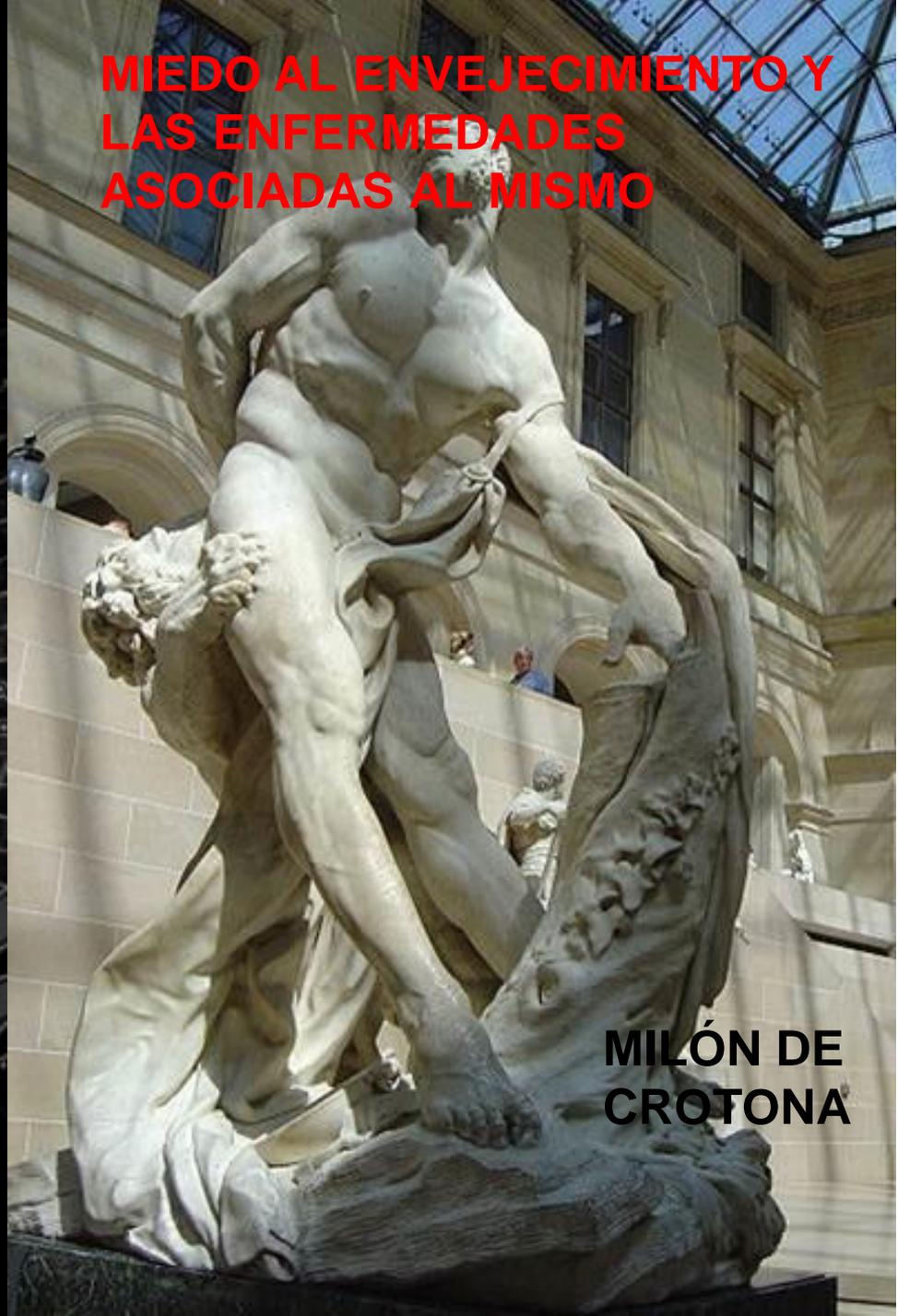
# ¿CUÁLES SON LOS PRINCIPALES MIEDOS DE LAS PERSONAS?



**MIEDO A LA MUERTE**



**MIEDO AL ENVEJECIMIENTO Y  
LAS ENFERMEDADES  
ASOCIADAS AL MISMO**



**MILÓN DE  
CROTONA**

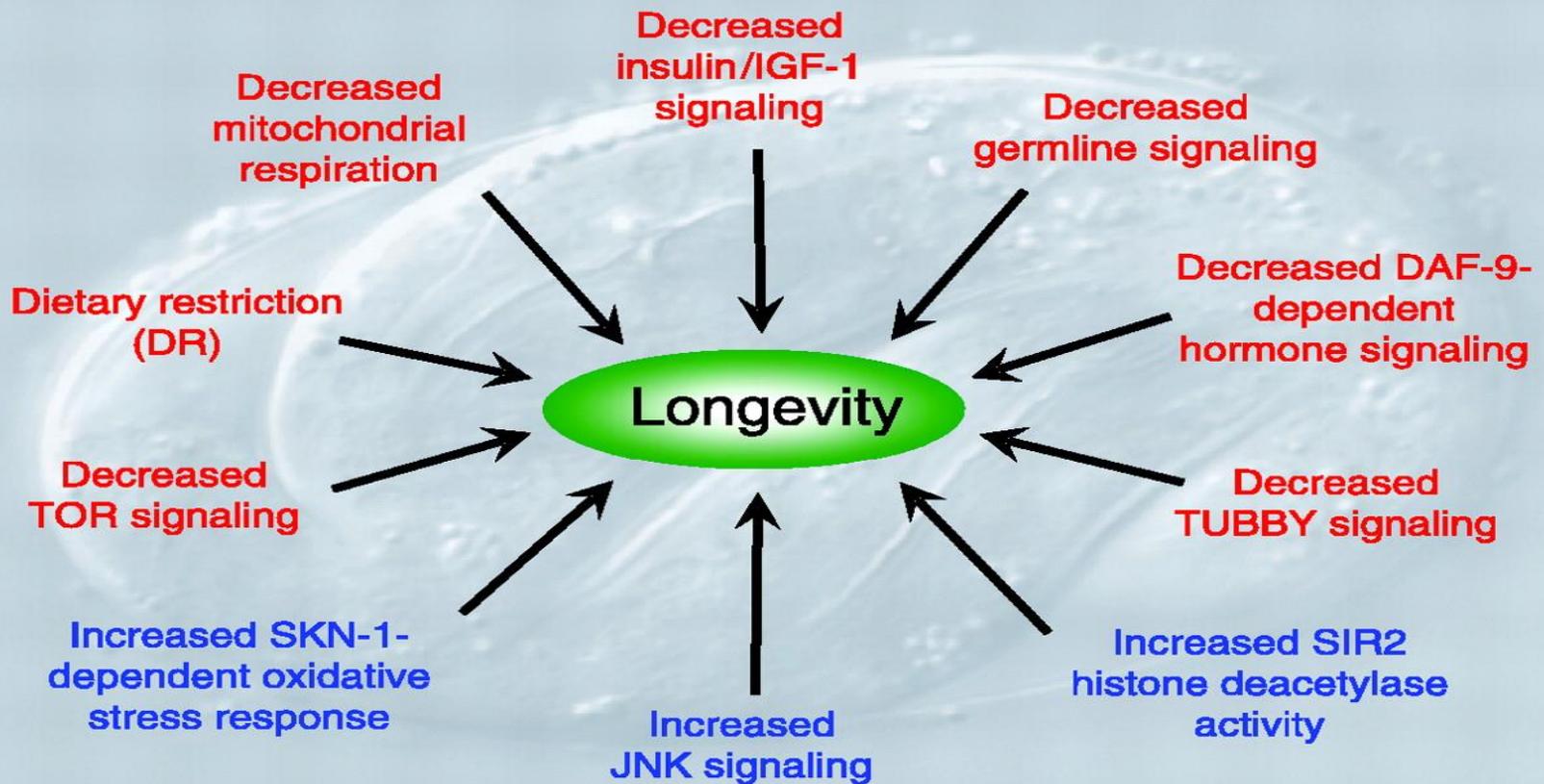
# ¿POR QUÉ MUERE LA GENTE?

DEJANDO DE LADO LAS MUERTES VIOLENTAS POR ACCIDENTES, GUERRAS, ASESINATOS, ATENTADOS....

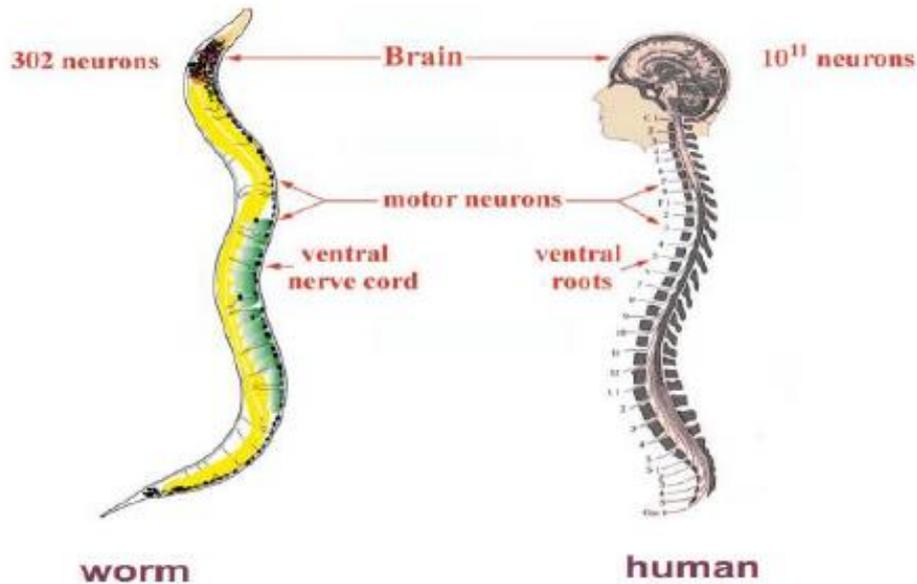
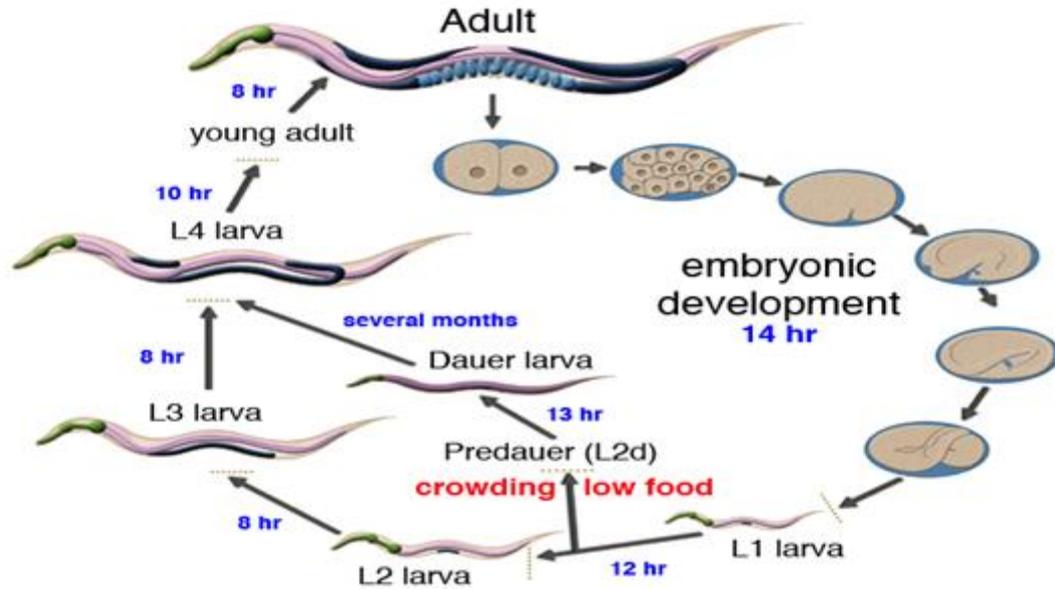
LA MUERTE NATURAL SE PRODUCE POR DOS CAUSAS:  
1- MORIMOS PORQUE NOS ENFERMAMOS  
2- MORIMOS PORQUE ENVEJECEMOS

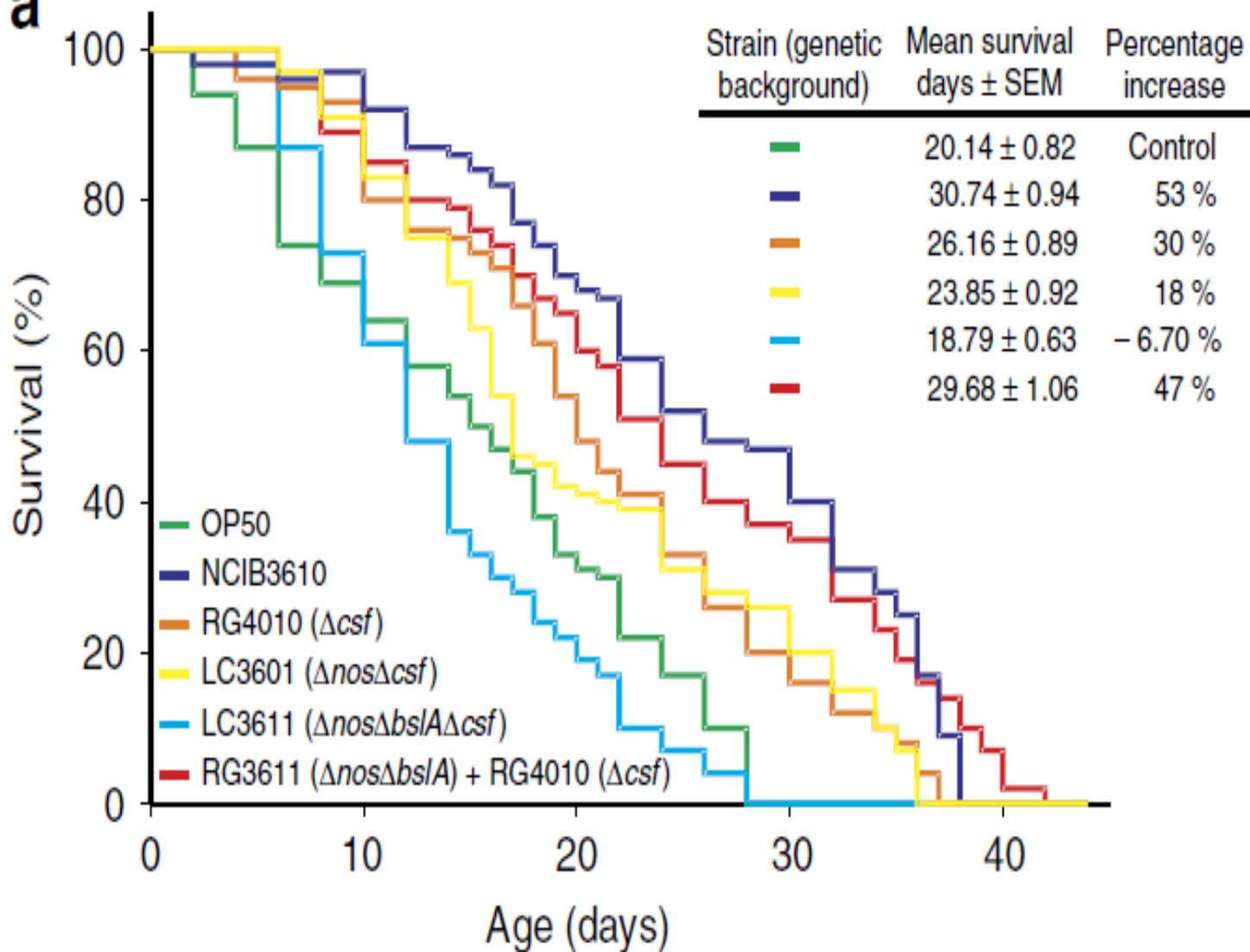
¿PUEDEN LOS PROBIÓTICOS CONTRIBUIR PARA ENVEJECER MÁS LENTAMENTE Y ASÍ ALCANZAR UNA MAYOR LONGEVIDAD?





# Ciclo de vida de *C. elegans*



**a**

ARTICLE

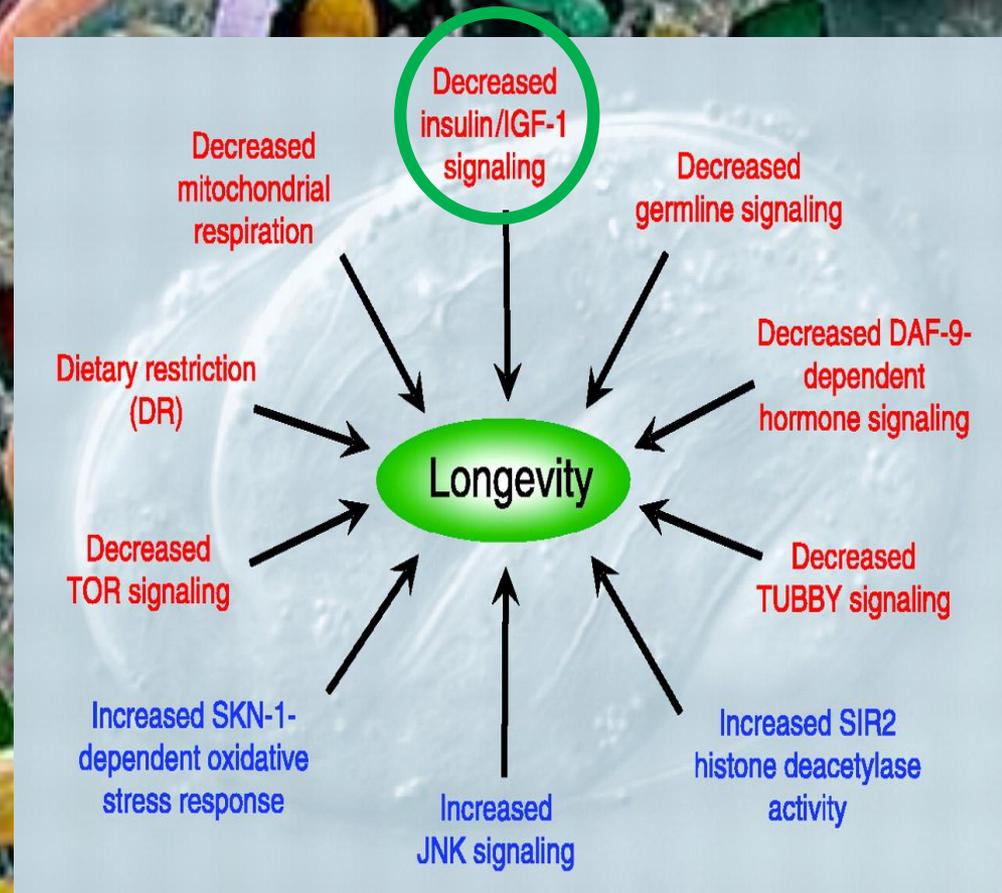
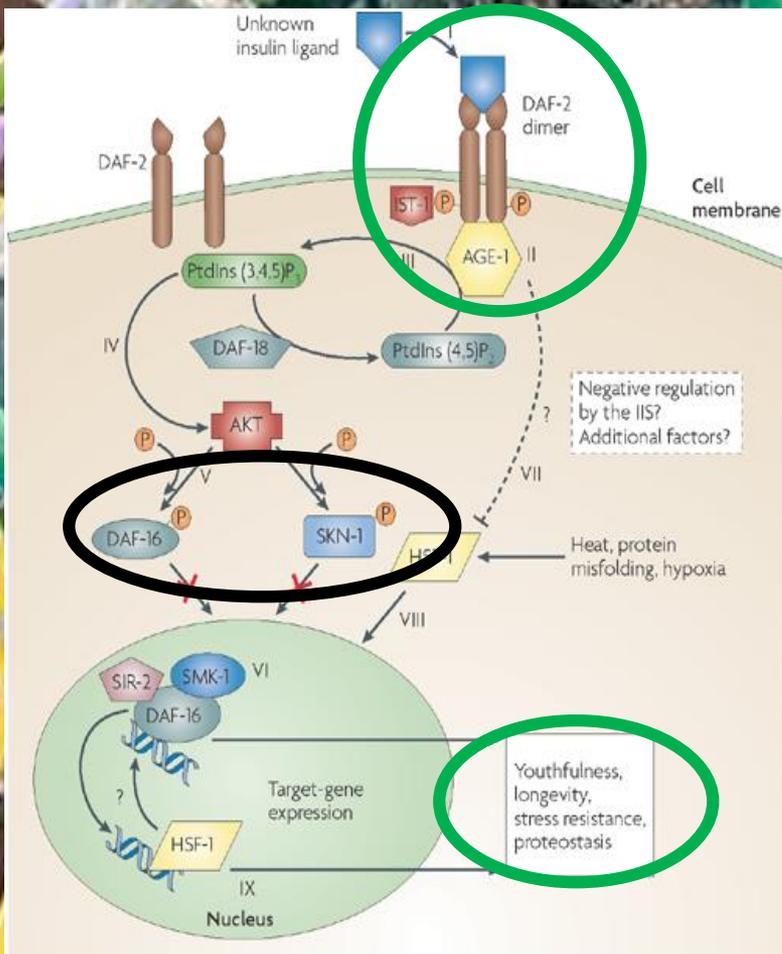
Received 17 Jul 2016 | Accepted 19 Dec 2016 | Published 30 Jan 2017

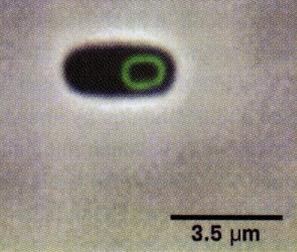
DOI: 10.1038/ncomms14332

OPEN

*Bacillus subtilis* biofilm extends *Caenorhabditis elegans* longevity through downregulation of the insulin-like signalling pathway

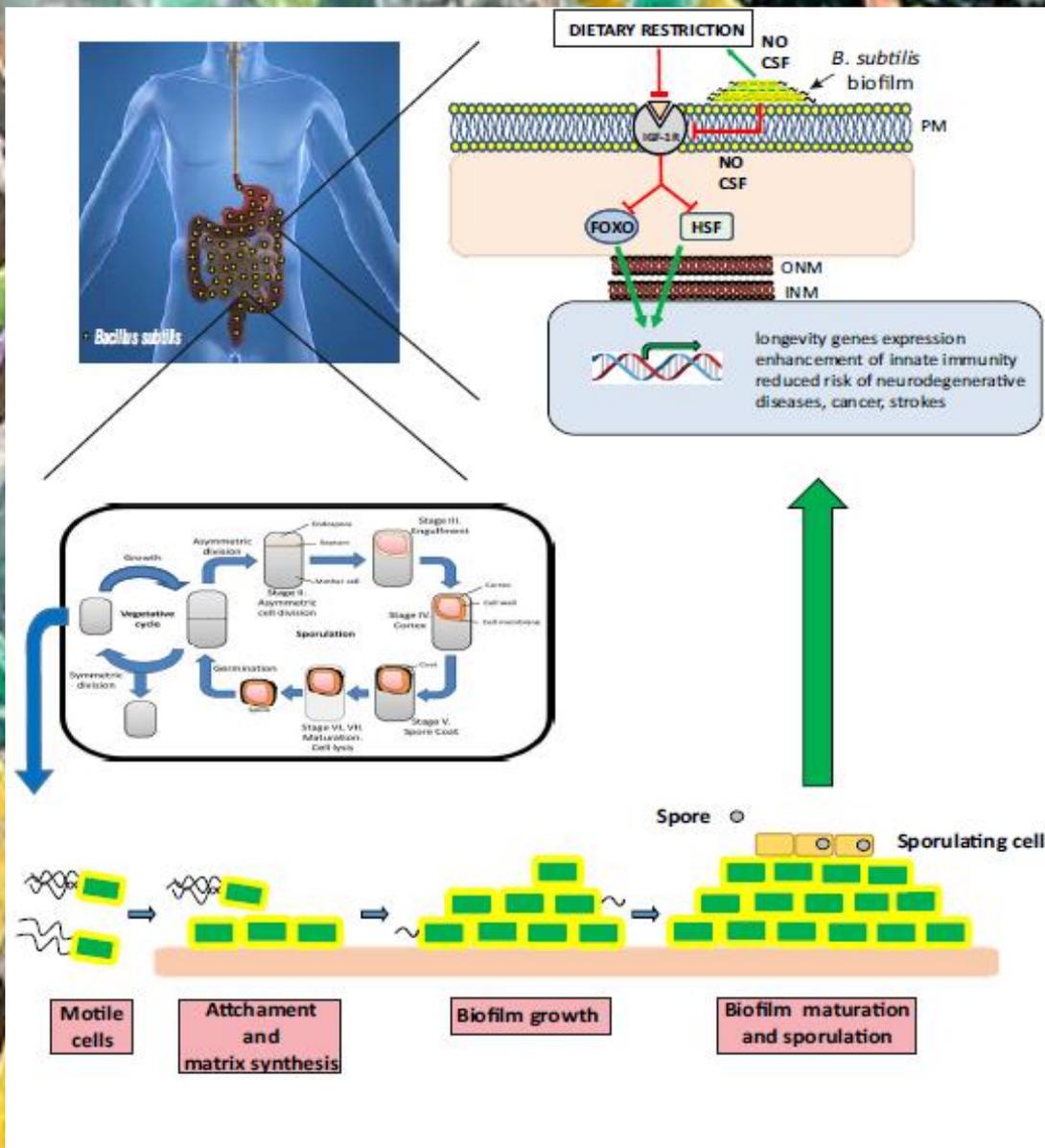
Verónica Donato<sup>1,\*,</sup> Facundo Rodríguez Ayala<sup>1,\*,</sup> Sebastián Cogliati<sup>1,\*,</sup> Carlos Bauman<sup>1,</sup> Juan Gabriel Costa<sup>1,</sup> Cecilia Leñini<sup>1</sup> & Roberto Grau<sup>1</sup>





¿ QUÉ BUSCAMOS?

# AUMENTO DE LA LONGEVIDAD EN HUMANOS



**BACILLUS SUBTILIS**  
PRODUJO UN AUMENTO  
DEL 55 % SOBRE LA  
LONGEVIDAD DEL  
ANIMAL MODELO DE  
ESTUDIO AFECTANDO  
DE MANERA POSITIVA  
LOS MISMOS GENES  
RESPONSABLES DE LA  
LONGEVIDAD DE LOS  
HUMANOS  
CENTENARIOS QUE  
VIVEN EN LA  
ACTUALIDAD.  
**EXTENDER LA  
EXPECTATIVA  
DE VIDA DE LOS  
HUMANOS DE 80 AÑOS  
A 120 AÑOS!**

## Microbial flora, probiotics, *Bacillus subtilis* and the search for a long and healthy human longevity

Facundo Rodriguez Ayala, Carlos Bauman, Sebastián Cogliati, Cecilia Leñini, Marco Bartolini and Roberto Grau\*

Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. CONICET – Rosario. Argentina.

\* Corresponding Author:

Roberto Grau, E-mail: robertograu@fulbrightmail.org

- **Yogures deshidratados - Leche en polvo**
- **Yerba mate - Café - Té**
- **Sopas instantáneas Frutas**
- **Pastas - Helados**
- **Bebidas - Chocolates**
- **Galletitas Cereales**
- **Aguas**
- **Etc. Etc. Etc.**



**DE ESTA MANERA CONSUMIENDO ALIMENTOS Y BEBIDAS CON  
ESPORAS PROBIÓTICAS ESTAREMOS CONSIGUIENDO**

**AUMENTO DE LAS  
DEFENSAS  
INMUNOLÓGICAS**



**EFFECTOS  
ANTITUMORALES**

**PREVENCIÓN DE  
ACVs**

**AUMENTO DE LA  
LONGEVIDAD**

**PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES  
NEURODEGENERATIVAS  
PARKINSON Y ALZHEIMER**

# ¿ QUÉ BUSCAMOS?



1

3

9

16

30

54

69

93

130

AÑOS DE VIDA