



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

La microbiota y enfermedades neurodegenerativas

**The gut microbiota and the neurodegenerative
diseases**

Autora: D^a Maider Gómez de Segura Solay

Directora: D^a Mónica Tramullas Fernández

Santander, Junio 2018

CONTENIDO

RESUMEN/ ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOTA	3
2. COMUNICACIÓN ENTRE LA MICROBIOTA Y EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	6
2.1. Nervio vago	6
2.2. Pared bacteriana y el sistema inmune	6
2.3. Metabolitos	8
2.3.1. Ácidos grasos	8
2.3.2. Triptófano	9
2.4. Neurotransmisores y neuropéptidos	10
2.4.1. GABA	10
2.4.2. Serotonina	10
2.4.3. Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF; brain-derived neurotrophic factor).....	11
3. PAPEL DE LA MICROBIOTA EN ENFERMEDADES DEL SNC.....	12
3.1. Enfermedad de Parkinson	12
3.1.1. Patología microbiana en la EP	13
3.2. Enfermedad de Alzheimer (EA)	15
3.2.1. La microbiota y la EA.....	15
3.2.2. La asociación entre la microbiota intestinal y el desarrollo de obesidad, Diabetes Mellitus de tipo 2 (DM2) y EA.....	17
3.2.3. El papel del lipopolisacárido (LPS) derivados de bacterias en la patogénesis de la EA.....	18
3.3. Esclerosis múltiple	19
3.3.1. La EM y la microbiota intestinal	20
3.3.2. Metabolismo de SCFA	21
3.3.3. Fitoestrógenos.....	21
3.3.4. Metabolismo del triptófano	22
3.3.5. Antibióticos y probióticos en la EM.....	23
3.3.6. La dieta en la EM	24
4. LA MICROBIOTA Y ENFERMEDADES NEUROPSIQUIÁTRICAS	24
4.1. Trastorno del espectro autista (TEA)	24
4.2. Depresión	25
5. LA MICROBIOTA INTESTINAL COMO DIANA TERAPÉUTICA	26
5.1. Probióticos	26
5.2. Antibióticos	27
5.3. Trasplante	27
6. CONCLUSIÓN	28
7. AGRADECIMIENTOS	29
8. BIBLIOGRAFÍA	29

RESUMEN

Los humanos vivimos en asociación con una gran variedad de microorganismos que residen en nuestros tejidos, entre ellos el tubo digestivo. La microbiota está modulada por factores del huésped como la genética y los nutrientes, pero a su vez esta microbiota es capaz de producir efectos en el propio huésped. La microbiota intestinal juega un papel crucial en el eje bidireccional intestino-cerebro que integra la actividad del intestino y del sistema nervioso central. En la actualidad, es motivo de estudio la posible correlación de la microbiota intestinal en el desarrollo neurocerebral así como su implicación en el desarrollo de diversas enfermedades neurodegenerativas y neuropsiquiátricas. Estos estudios se han centrado en analizar variaciones en los diferentes microorganismos y/o productos derivados de los mismos y mediante el uso de diferentes antibióticos y probióticos exógenos; puesto que se ha visto la implicación de la microbiota en la estabilización de la homeostasis del sistema inmune periférico y en la predisposición del huésped a padecer enfermedades neuropsiquiátricas y autoinmunes del Sistema Nervioso Central (SNC) como la esclerosis múltiple, la enfermedad de Alzheimer o el Parkinson. Si bien ya se han identificado diferentes vías neuronales, endocrinas y metabólicas de comunicación entre el cerebro y la microbiota, son necesarios más estudios para aclarar con precisión todos los mecanismos subyacentes implicados. Así, se podrían diseñar estrategias para modular la microbiota humana y por consiguiente su función, que ayude a mejorar el manejo y/o tratamiento de estas enfermedades.

ABSTRACT

Humans live in association with a great variety of microorganisms that reside in our tissues, for instance in the digestive track among others. The microbiota is modulated by certain factors of the host, such as genetics or nutrients, but it also affects the host himself. The microbiota plays a major role in the intestine-brain bidirectional axis, which consists in the activity of the intestine and the central nervous system. Currently, it is being explored whether the microbiota is correlated with the neurocerebral development, as well as with several neurodegenerative and neuropsychiatric diseases. This is studied by analysing the variations in the microorganisms, products derived therefrom, and by the use of various exogeneous antibiotics and probiotics, since it has been observed that the microbiota itself is involved in stabilising the homeostasis of the peripheral immune system and in the propensity of the host to neuropsychiatric and autoimmune diseases of the CNS, such as multiple sclerosis, Alzheimer's disease or Parkinson's disease. Although there are different neuronal, endocrine and metabolic pathways of communication that have been identified between the brain and the microbiota, further research is required to clarify precisely all the underlying mechanisms involved. Strategies could be therefore designed to modulate the human microbiota and its functioning and improve the management of these diseases.

1. INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOTA

El ser humano convive con una enorme cantidad de microorganismos comensales, residentes tanto a nivel de la superficie epidérmica como en los conductos y cavidades del organismo. A la totalidad de estos microorganismos se le denomina microbiota, y al conjunto de su genoma microbioma.

El tracto gastrointestinal aloja unos 100 trillones de microorganismos (bacterias, arqueas, levaduras, parásitos, virus) los cuales son responsables de múltiples funciones en el huésped y esenciales para su salud. Esta microbiota intestinal puede llegar a pesar incluso 2kg y contener por lo menos 1000 especies diferentes de bacterias conocidas y sumar en conjunto más de 3 millones de genes (150 veces más genes que los genes humanos) (Bermon et al., 2015).

La microbiota intestinal humana, está implicada en muchos de los procesos fisiológicos básicos del desarrollo y funcionamiento del cuerpo humano, incluyendo la digestión, el crecimiento y el mantenimiento de la homeostasis. De esta manera, podría jugar un papel importante en múltiples enfermedades crónicas como son la obesidad, enfermedades inflamatorias intestinales, la diabetes tipo 2, el asma e incluso las enfermedades neurodegenerativas, las cuales abordaremos más adelante (Cryan and Dinan, 2012; Foster y McVey Neufeld, 2013).

La composición de la microbiota está influenciada por factores tanto temporales como espaciales. El intestino fetal del ser humano es estéril y su colonización se produce inmediatamente después de su nacimiento, en la vía del parto, por la transmisión materna, y mediante agentes como la dieta, estímulos ambientales y el uso de antibióticos (Sekirov et al., 2010). Sin embargo, recientemente también se ha detectado la presencia de bacterias en el meconio de neonatos sanos, lo cual indicaría la transferencia prenatal de la microbiota de la madre al feto. Desde el primer año de vida la microbiota intestinal ya poseerá las características de la microbiota de la vida adulta (Jimenez et al., 2008; Valles et al., 2012).

Como la comunidad bacteriana intestinal varía de un organismo a otro, se ha planteado el concepto de enterotipo, para clasificar los individuos dependiendo en la composición de la microbiota humana. Así se han caracterizado tres tipos de enterotipos en humanos adultos con relativa abundancia de *Bacteroides*, *Prevotella* o *Ruminococcus* (Arumugam et al., 2011). No obstante, estudios más recientes defienden la importancia de otros enterotipos menos numerosos por estar compuestos de géneros bacterianos claves para el humano (Koren et al., 2013).

Una proporción importante de la microbiota puede ser definido como “simbionte” o como “patobionte”, dependiendo si son mutualistas (promotoras de salud) u oportunistas (inductores de patología) en el huésped. Un ejemplo de la microbiota mutualista está en el intestino y ambos conjuntamente se comportan como un único órgano (O’Hara y Shanahan, 2006). Tradicionalmente se considera que la microbiota intestinal desempeña tres grandes funciones (O’Hara y Shanahan, 2006; Round and Mazmanian, 2009):

- *Funciones de nutrición y metabolismo:* son el resultado de la actividad bioquímica de la microbiota, e incluyen; la recuperación de energía en forma de ácidos grasos de cadena corta, la producción de vitaminas y efectos favorables sobre la absorción de calcio y hierro en el colón.
- *Funciones de protección:* previenen la invasión de agentes infecciosos o el sobrecrecimiento de especies residentes con potencial patógeno.
- *Funciones tróficas:* sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal, y sobre el desarrollo y modulación del sistema inmune.

Con el comienzo de la psicología moderna ya se remarcó la importancia del vínculo entre el intestino y el cerebro para el mantenimiento de la homeostasis. Ha sido en la última década cuando diversos estudios han señalado la posible relación entre la microbiota y la regulación del eje intestino-cerebro. De hecho, numerosas evidencias apuntan a que la microbiota juega un papel crucial en la modulación de diversas funciones cerebrales, ocupando así un papel protagonista en el desarrollo y mantenimiento de enfermedades neuropsiquiátricas (Stilling et al., 2014). Los mecanismos de comunicación entre ambos sistemas son complejos, ya que incluyen vías metabólicas, inmunes, neurales y endocrinas (Grenham et al. 2011; Mayer et al. 2014a; El Aidy et al. 2015; Koh et al. 2016). Como detallaremos más adelante, el nervio vago es clave en la comunicación entre la microbiota intestinal y comportamientos modulados por el sistema central como se ha demostrado en experimentos in vivo mediante la vagotomía selectiva (Bravo et al. 2011; Bercik et al. 2011b). La microbiota también regula algunos de los neurotransmisores centrales alterando los niveles de sus precursores. Así, el tratamiento con *Bifidobacterium infantis* eleva los niveles de triptófano en plasma para influir posteriormente en la transmisión mediada por 5-HT en el SNC (Sistema Nervioso Central) (Desbonnet et al. 2008; O'Mahony et al. 2015a). Pero además, las bacterias también tienen la capacidad de producir y secretar algunos neurotransmisores, como el GABA, la noradrenalina, la serotonina, la dopamina y la acetilcolina, los cuales pueden atravesar la mucosa intestinal y mediar eventos fisiológicos en el cerebro (Lyte, 2013, 2014; Wall et al. 2014).

Por otra parte, algunos de los metabolitos de la microbiota intestinal, como son los ácidos grasos de cadena corta, ejercen efectos tanto directa como indirectamente en el SNC (Galland, 2014; Stilling et al. 2014, 2016; Paul et al. 2015).

La señalización inmune desde la microbiota al cerebro mediante diferentes citoquinas es otro de los mecanismos documentados entre las rutas de comunicación (El Aidy et al. 2014). Además, la interacción de la microbiota y el sistema inmune ayuda en el reconocimiento de autoantígenos y patógenos potencialmente dañinos (Fasano, 2012; Sonnenberg & Artis, 2012; Kamada et al. 2013; Sommer & Backhed, 2013; Scaldaferri et al. 2012; Kelly et al. 2015).

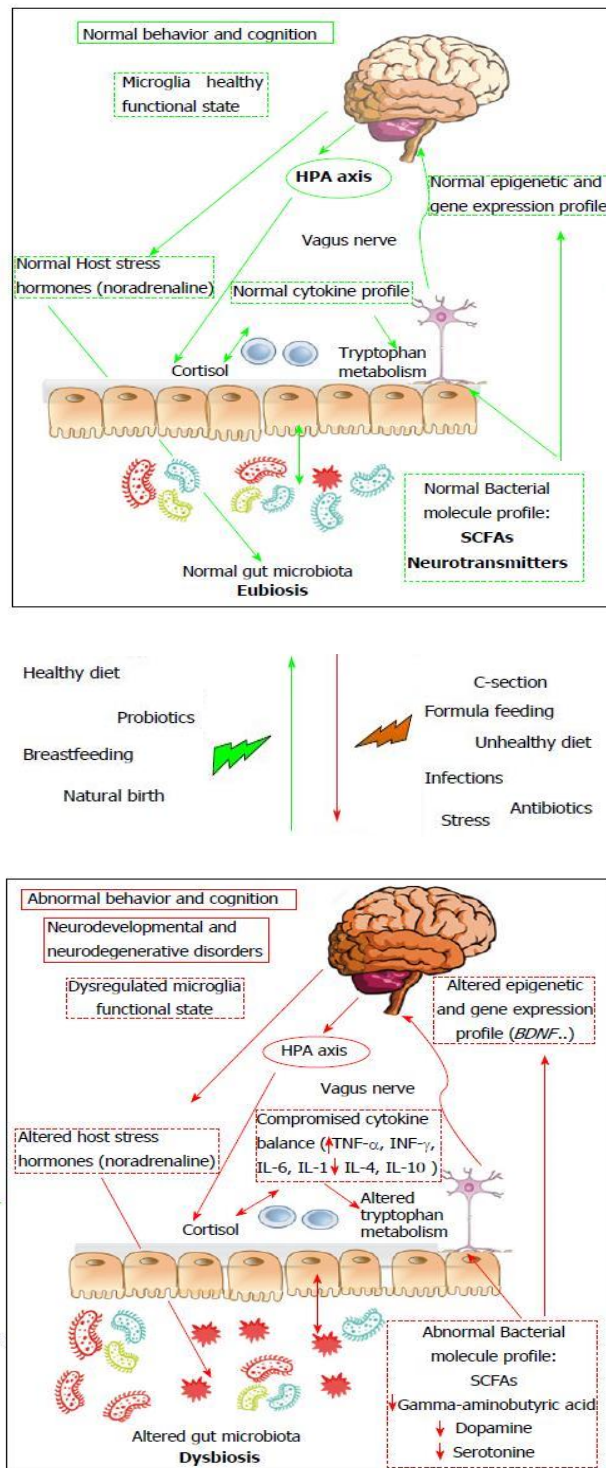


Figura 1. Representación de los mecanismos involucrados en la relación entre la microbiota y el desarrollo y función cerebral: citoquinas y la activación microglial (vía inmune), cortisol (vía endocrina) y el nervio vago y el sistema nervioso entérico (vía neural). El eje microbiota-intestino-cerebro juega un papel importante en la homeostasis y se ha relacionado con diferentes enfermedades. La composición alterada de la microbiota aumenta el riesgo para el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas y neuropsiquiátricas, posiblemente por los productos derivados de la microbiota como los SFCA y neurotransmisores. HPA: hipotálamo-pituitaria-adrenal (Tomada y modificada de Cenit et al., 2017).

2. COMUNICACIÓN ENTRE LA MICROBIOTA Y EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

La comunicación entre la microbiota y el SNC es bidireccional, el intestino recibe señales reguladoras del SNC y viceversa, la microbiota puede regular funciones esenciales del SNC. Como hemos mencionado anteriormente, la comunicación entre ambos incluye una comunicación aferente y eferente neural, endocrina, nutricional y, además, una comunicación mediada por señales inmunológicas. Estas interacciones muchas veces coexisten en el tracto gastro-intestinal (GI), donde albergan aproximadamente 500 millones de terminaciones nerviosas y el mayor componente de células inmunes de nuestro organismo. A continuación, desarrollaremos en detalle los mecanismos moleculares que median las diversas vías de comunicación entre el SNC y la microbiota.

2.1. Nervio vago

El nervio Vago o el décimo (X) par craneal, componente principal del sistema nervioso parasimpático (Zagon, 2001), mediante la transmisión de información sensorial aferente y eferente constituye una conexión directa entre el SNC y el intestino. El nervio vago es capaz de percibir la microbiota, enviar información del intestino al SNC, y posteriormente generar una apropiada o inapropiada respuesta. De hecho, múltiples estudios han indicado que las vías aferentes del vago median la comunicación entre la microbiota y el SNC (Lyte et al., 2006; Goehler et al., 2008). La expresión de c-FOS es extensamente utilizada como un marcador de activación neuronal. En estos estudios se han identificado la inducción de c-FOS en las neuronas sensoriales del vago como un posible mecanismo neural de estas interacciones. Curiosamente, animales infectados con los enteropatógenos *Citrobacter rodentium* y *Campylobacter jejuni* tienen aumentados los niveles de c-FOS en el ganglio sensitivo del vago y algunas regiones cerebrales (núcleo paraventricular, núcleo basolateral de la amígdala, en el núcleo del lecho de la estría terminal, prefrontal medial, y cortex cingulado anterior) en comparación con animales no infectados, sugiriendo comunicaciones entre el aparato GI y regiones cerebrales implicados en la ansiedad (Lyte et al., 2006; Goehler et al., 2008). Además, las vagotomías realizadas en ratas infectadas con patógenos como la *Salmonella typhimurium* han confirmado el papel del nervio vago en la transmisión de señales hacia el cerebro, ya que una vez realizado la sección del vago, se produjo una atenuación de la expresión del c-FOS en las neuronas, junto con una disminución de células inmunes (Wang et al., 2002). El nervio vago posee propiedades anti-inflamatorias, y se ha visto que el estrés inhibe su función mientras que activa el sistema nervioso simpático (Bonaz et al., 2016a,b)

La intercomunicación entre el nervio vago y el SNC es una evidencia tanto anatómica como fisiológica. Por ello, intervenciones a nivel del vago, podrían ser útiles para la restauración de la homeostasis entre la microbiota-intestino-cerebro, e incluso ser una diana terapéutica en enfermedades neuropsiquiátricas.

2.2. Pared bacteriana y el sistema inmune

La microbiota contribuye en diversas funciones inmunológicas. En la barrera intestinal, previene la colonización y el crecimiento de microorganismos patógenos (Stecher et al., 2010; Berer et al., 2012), madura la barrera inmune, tanto estimulando la respuesta

innata a través de los receptores *tool-like receptors* (TLRs) Y *NOD-like receptors* (NLRs) como la adaptativa (Ismael et al. 2005; Hall et al., 2008; Clarke et al., 2010), controla la secreción de mucinas, péptidos antimicrobianos, defensinas e IgA (Berer et al., 2012).

En cuanto al desarrollo de la respuesta inmune sistémica, mediante ratones libres de gérmenes (LG), que carecen de la flora intestinal, se ha podido implicar a la microbiota en la regulación y la maduración de las placas de Peyer, nódulos linfáticos mesentéricos y centros germinales. Asimismo, regula el número de células plasmáticas productoras de IgA, de células $\text{TY}\delta$ intestinales y linfocitos TCD4^+ en la lámina propia o intraepiteliales e interviene en la expresión génica de TLRs y del complejo mayor de histocompatibilidad (Berer et al., 2012).

La microbiota también condiciona el desarrollo de las células T efectoras y la producción de citocinas, desatacando la influencia sobre los linfocitos Th17 y Treg, implicados en la respuesta autoinmune y su regulación. Los ratones LG presentan reducción en linfocitos Th1 y Th17, inclinando el balance de la respuesta inmune T hacia Th2, lo que revierte al reconstituir la flora intestinal (Mazmanian et al., 2005; Chung et al. 2012). Se ha propuesto la implicación de la microbiota en el paso de los linfocitos Th17 estacionarios a linfocitos T pro-autoinmunes. Así los microorganismos mutualistas inducen la producción de Th17 estacionarios que, en presencia de un microambiente pro-inflamatorio, promovido por citocinas, pasarían a Th17 patogénico, productor de IFN- γ , contribuyendo a la progresión del ambiente inflamatorio intestinal (Kamada et al., 2013; Chewning et al., 2014). La presencia de una simple bacteria filamentosa segmentada sería suficiente para contribuir a esta actividad Th17 pro-autoinmune (Ivanov et al., 2009).

En cuanto a los Treg, la microbiota es indispensable para su desarrollo y función (Kamada et al., 2014). Estos linfocitos regulan la inflamación que se genera frente a estímulos microbianos a través de la IL-10 (Kamada et al., 2013). Diversas bacterias se han relacionado con la inducción de Treg (Geuking et al., 2011; Atarashi et al. 2011; Atarashi et al. 2013), desatacando el papel del *Bacteroides fragilis*-concretamente su polisacárido A (PSA) con el desarrollo de linfocitos T reguladores Foxp3^+ (subpoblación linfocitos T reguladores positivos para el factor de transcripción Foxp3) productores de IL-10, clave en la regulación de la tolerancia inmunológica (Mazmanian et al. 2008; Round et al. 2010).

Los ácidos grasos de cadena corta, especialmente el butirato, desencadenan un balance del sistema inmunológico hacia un “estado antiinflamatorio”, puesto que aumentan la producción de IL-10 e IL-4 (Saeman et al. 2000), reducen la adherencia vascular de los leucocitos mediado por VCAM-1 (Menzel et al. 2004), inhiben la función del IFN- γ , y por tanto su capacidad pro-inflamatoria (Klampfer et al. 2003) regulando los linfocitos Treg, y la función inflamatoria de los leucocitos (Le Poul et al.. 2003; Vinolo et al. 2011).

2.3. Metabolitos

Los metabolitos derivados tanto de la digestión como de la fermentación de los componentes de la dieta que producen los microorganismos pueden modular procesos cerebrales y del sistema inmune.

2.3.1. Ácidos grasos

El cerebro está enriquecido en ácidos grasos que ayudan a regular diversos procesos, tales como la neurotransmisión, supervivencia o la inflamación neuronal (Bazinet y Laye, 2014). Los ácidos grasos de la dieta mediante la producción de distintas moléculas como los eicosanoides, ejercen acciones en las respuestas inmunes e inflamatorias y la transcripción de distintos genes. En cambio, los ácidos grasos de cadena corta (SFCA-short chain fatty acids) de origen microbiano poseen una acción anti-inflamatoria muy potente y son los metabolitos principales de la microbiota intestinal. De esta manera, ácidos grasos como el acetato, butirato, isobutirato o propionato producidos por las *Eubacterium*, *Roseburia*, *Bifidobacteriu*, *Lactobacillus* o *Enterobacter*, todos ellos presentes en la microbiota, influyen en la permeabilidad intestinal, estimulan el funcionamiento del sistema inmune, alteran las lipoproteínas y descienden el pH colónico (Nicholson et al., 2012). Asimismo, los SFCA estimulan la producción de neuropéptidos como el Péptido YY (PYY) y el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1; glucagon-like peptide-1) (Kuwahara, 2014). Tras la liberación de estos péptidos se activa la vía entérica y la vía aferente del vago reduciendo las concentraciones de serotonina y dopamina en el córtex frontal y en la amígdala.

En un estudio realizado por Erny et al. demostró que ratones libres de gérmenes presentan alteraciones en la microglía (macrófagos del SNC cruciales para el mantenimiento de la homeostasis cerebral) y tras la administración oral de SFCA (se les mezcló SFCA en el agua de donde bebían durante 4 semanas) se revertían las alteraciones morfológicas de la microglia y se favorecía la maduración de la misma (Erny et al., 2015).

Por otra parte, también se ha visto el papel de los SCFA en la regulación de la función de la histona deacetilasa (HDAC), en la estimulación de sistema nervioso simpático y en la posible influencia en los comportamientos sociales en roedores (MacFabe, et al., 2011).

El propionato inicia la gluconeogénesis intestinal mediante la señalización de FFAR3 (De Vadder et al., 2013). La glucosa liberada en este proceso entra directamente en la vena porta donde sensores de glucosa mandan señales de saciedad al cerebro (Delaere et al., 2012). Una de las principales dianas de la gluconeogénesis intestinal producida por el propionato es el núcleo dorsal del vago (Lacassagne et al., 2000). Una mayor actividad en el núcleo dorsal del vago es un indicador precoz de la enfermedad de Alzheimer y Parkinson (Greene et al., 2014), indicando que la producción y regulación de la gluconeogénesis del propionato intestinal puede ser un proceso en las etapas iniciales de la neurodegeneración.

Los SCFA también actúan como moléculas endocrinas e interfieren en múltiples rutas bioquímicas tanto a nivel sistémico como en el propio cerebro. Los SFCA pueden fácilmente entrar en la circulación sistémica desde el intestino y atravesar la barrera

hematoencefálica mediante los transportadores monocarboxílicos (Vijay et al., 201), para actuar directamente en el cerebro (Braniste et al., 201). De esta manera, el butirato es capaz de aumentar la actividad en regiones reguladoras de los factores de transcripción Forkhead box (FOXO) (Beharry et al., 2014). FOXO es uno de los factores implicados en la longevidad, ya que está implicado en la regulación del crecimiento celular, la división y la diferenciación; sin embargo, en algunas enfermedades como ocurre en pacientes con la enfermedad de Parkinson, FOXO, que también se encarga de la regulación de los genes de la apoptosis, puede inducir la muerte celular. Por ello, en la neurodegeneración, la inducción de genes autofágicos mediados por FOXO ha demostrado ser clave para la neuroprotección (Pino et al., 2014; Xu et al., 2011).

Varios estudios han demostrado la capacidad neuroprotectora del butirato mediante la inhibición de HDAC, así como por los efectos que produce en la expresión de FOXO tanto en modelos in vitro como in vivo de animales con enfermedades neurodegenerativas (Bahia et al., 2012). De hecho, en estudios con animales se ha visto como el butirato es capaz de disminuir la toxicidad del péptido β -amiloide ($A\beta$ - péptido con un peso molecular de 4kD y principal componente de los depósitos amiloides en el cerebro de pacientes con Alzheimer) en la enfermedad de Alzheimer y también reducir la proteína α -sinucleína implicada en la enfermedad de Parkinson, mediante la regulación de la HDAC (Cohen et al., 2006). Esto demuestra que la manipulación del butirato puede llegar a ser una línea terapéutica y preventiva en las enfermedades neurodegenerativas.

2.3.2. Triptófano

El triptófano es un aminoácido esencial, y es el precursor de muchos agentes biológicamente activos. Una disminución en los niveles de triptófano se ha visto asociada a alteraciones en el sistema inmune. Esta relación entre el triptófano y el sistema inmune podrían tener influencia en el funcionamiento del SNC y en el consiguiente desarrollo de trastornos del humor.

El triptófano se cataboliza por dos vías: la vía de la serotonina y la vía de la quinurenina. La serotonina, uno de los neurotransmisores más importantes del SNC, se localiza primordialmente en el intestino, ya que se sintetiza del triptófano ingerido a través de la dieta, en las células enterocromafines del tracto gastrointestinal. Por otra parte, la desregulación de la vía de la quinurenina, también se ha visto implicada en diversos trastornos cerebrales y del tracto gastrointestinal (Song et al., 1998; Schrocksnadel et al., 2006). La quinurenina da lugar a varios productos finales como el ácido quinureico, metabolito neuroprotector, y el ácido quinolínico, metabolito neurotóxico. La conversión de quinurenina plasmática al ácido quinureico tiene acciones neuroprotectoras y atenúa la depresión inducida por el estrés (Agudelo et al., 2014).

Para evaluar las propiedades antidepresivas de los probióticos, Desbonnet et al., demostraron que las ratas alimentadas con el probiótico *Bifidobacterium infantis* (*B. infantis*) tenían niveles más bajos de citoquinas (IL-6, IFN- γ and TNF- α) proinflamatorias y un incremento en concentraciones plasmáticas del triptófano. Además, estas ratas mostraban una reducción en las conductas depresivas, evaluadas en el test de natación forzada (Desbonnet et al., 2008). Asimismo, el tratamiento probiótico también resultó en una reducción de las concentraciones de serotonina y dopamina en el córtex frontal

y la amígdala. Este estudio de Desbonnet et al. también demostró un metabolismo a favor del ácido quinurénico desde la quinurenina; por ello, como los niveles de triptófano aumentan en animales tratados con *B. infantis*, también se producía un aumento del ácido quinurénico. Estos resultados sugieren que ciertos probióticos podrían influir en el metabolismo del triptófano y ser útiles para la atenuación de la depresión inducida por el estrés incrementando la conversión de quinurenina hacia el ácido quinureico (Desbonnet et al., 2008).

2.4. Neurotransmisores y neuropéptidos

Son múltiples las bacterias que producen neurotransmisores y neuropéptidos. Los neurotransmisores son mensajeros químicos que transmiten señales mediante la sinapsis química desde una neurona a otra, hacia células musculares o células glandulares. Los neuropéptidos son pequeñas proteínas que pueden ser liberados en el cerebro para activar diferentes receptores permitiendo así a las neuronas comunicarse entre ellas. Ambos están considerados como mensajeros neuronales, y desequilibrios en ellos pueden tener importantes efectos deletéreos tanto en el cerebro como en el comportamiento.

2.4.1. GABA

Se trata del neurotransmisor inhibitorio principal del SNC. La disfunción de GABA se ha visto implicado en la fisiopatología de varias enfermedades crónicas como la ansiedad y la depresión. Bacterias, como el *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, son capaces de producir GABA desde el glutamato (Higuchi et al., 1997; Barrett et al., 2012). Además, el *L. rhamnosus* puede modular la expresión de receptores gabérgicos en regiones específicas del SNC, y así tener efectos beneficiosos en el tratamiento de la depresión y la ansiedad (Bravo et al., 2011).

2.4.2. Serotonina

La serotonina es un importante neurotransmisor excitante que modula la liberación de la hormona corticotropa (CRF) y la hormona arginina vasopresina (AVP) (Calogero et al., 1993). Este neurotransmisor está implicado en prácticamente todas las funciones cerebrales tales como la conducta, el humor, el sueño, el dolor y el comportamiento sexual. La desregulación de la serotonina se ha visto involucrado en la patogenia de muchas enfermedades neuropsiquiátricas. Aproximadamente el 90% de la serotonina está producida por las células cromafines del tracto gastrointestinal. Asimismo, especies como *Escherichia* y *Enterococcus* pueden producirla (Cryan y Dinan, 2012). Además, la microbiota intestinal puede promover la producción de la serotonina mediante la actividad de los SFCA en las células enterocromafines (Reigstad et al., 2015). Un estudio experimental demostró un incremento en las concentraciones de serotonina, así como de su metabolito principal, ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), en ratones machos LG en comparación con ratones controles con microbiota convencional (Clarke et al., 2013). Además, los niveles plasmáticos de triptófano también se aumentaban en estos ratones LG, sugiriendo así una posible ruta humoral mediante la cual la microbiota influye sobre la neurotransmisión serotoninérgica del SNC. Una vez que estos ratones LG se hacían adultos, no era posible revertir los niveles de serotonina y 5-HIAA mediante la

reconstitución de la microbiota a partir de la microbiota de los animales convencionales. Si bien es cierto que la realización de estudios experimentales con estos animales ayuda a comprender el funcionamiento del organismo en ausencia de la microbiota, estos resultados se deberían extrapolar con cautela al ser humano.

Existe una estrecha relación entre los niveles plasmáticos de cortisol y la serotonina. De esta manera, el estrés agudo induce una elevación en los niveles de cortisol relacionados con aumentos de serotonina. Sin embargo, el estrés crónico que provoca una elevación mantenida de cortisol tiene un efecto opuesto, ya que produce una disminución en la liberación de la serotonina. Lo mismo ocurre con el receptor 5HT_{1A}, con un aumento de su capacidad de respuesta en el estrés agudo y disminución en el crónico (Meijer et al., 1998). Estudios experimentales han demostrado que cuando las ratas crecen en ambientes estresantes y con mayor ansiedad, los niveles de los receptores 5HT_{1A} en el hipocampo están disminuidos (Chaouloff et al., 1995; Meijer et al., 1998).

Esta relación entre el sistema serotoninérgico y el estrés se basa principalmente en estudios experimentales. Sin embargo, en estudio clínicos también se han visto evidencias de que una hipersecreción de cortisol provoca una disminución de triptófano, precursor de la serotonina. En algunos pacientes con depresión se han visto niveles reducidos de serotonina, triptófano, cortisol y prolactina (O'Keane et al., 1991; Aber-Wistedt et al., 1998).

El resultado de estos estudios experimentales y clínicos dan credibilidad a la relación entre la microbiota y la serotonina, así como el estrés crónico y su consiguiente hipersecreción de cortisol, el cual inicia una cascada de cambios en el sistema serotoninérgico. Estos cambios están relacionados con el inicio de la depresión y la ansiedad. Por ello, si se llegara a comprender mejor el papel de la microbiota en este proceso, la modulación de bacterias intestinales podría ayudar a paliar las alteraciones que ocurren en la depresión o ansiedad.

2.4.3. Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF; brain-derived neurotrophic factor)

El BDNF es una neurotrofina ampliamente expresada en el SNC que estimula la supervivencia neuronal, el crecimiento y diferenciación de nuevas neuronas, así como la sinapsis entre ellas. Hay abundantes evidencias que señalan la función neuroprotectora del BDNF y su papel en el crecimiento y plasticidad de la sinapsis y la diferenciación neuronal. Además, unos niveles disminuidos de BDNF se han asociado con la depresión crónica, y precisamente, la administración crónica de ciertos antidepresivos, por ejemplo, la tranilcipromina, un Inhibidor irreversible de la monoamino oxidasa (IMAO) incrementan niveles de BDNF en el cerebro (Garza et al., 2004).

El tratamiento con antibióticos administrados por vía oral en ratones libres de gérmenes específicos altera la composición de la microbiota, aumenta la expresión de BDNF en el hipocampo, así como las conductas exploratorias de estos ratones (Bercik et al., 2011).

No obstante, la influencia entre BDNF y la microbiota intestinal también podría estar modulada por niveles hormonales, como los del estrógeno, puesto que muestra un comportamiento diferente en mujeres y hombres.

En suma, debido a la relación del BDNF en la neuroplasticidad y los trastornos neurológicos, las próximas investigaciones están dirigidas al estudiar la asociación del BDNF y otras neurotrofinas, y el grado de influencia de la microbiota en estos factores de crecimiento (Diaz Heijtz et al., 2011; Clarke et al., 2013).

3. PAPEL DE LA MICROBIOTA EN ENFERMEDADES DEL SNC

Todos los mecanismos que hemos mencionado anteriormente ponen de manifiesto el gran impacto que tiene la microbiota en el normal funcionamiento del SNC, así como en el desarrollo de numerosas enfermedades cerebrales. En los últimos años ha se ha producido una explosión de actividad investigadora dirigida a desvelar el papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas y neuropsiquiátricas. Identificar el papel crucial de la microbiota intestinal no solo en el desarrollo sino además en la evolución y en la prevención de estas patologías nos permitirá identificar componentes específicos de la flora bacteriana con potencial terapéutico en patologías del SNC. Aunque todavía hay un gran déficit de estudios epidemiológicos que conecten la microbiota con estas enfermedades, cada vez más estudios subrayan la importancia de la relación entre ambas. En el siguiente bloque revisaremos la relación entre la microbiota y ciertas enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple.

3.1. Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa que se encuentra en aumento en la población anciana. Se caracteriza por una neuroinflamación y una pérdida de neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo, con las consiguientes alteraciones en el sistema motor y no-motor en los pacientes. Uno de los síntomas no motores más típicos son las alteraciones gastrointestinales, los cuales aparecen con una prevalencia del 70-80% (Martinez-Martin, 2011). Entre estos síntomas se encuentran la distensión abdominal, náuseas, estreñimiento, retraso en el vaciamiento gástrico y prolongación en el tránsito intestinal. De todos ellos, el estreñimiento es el más común con una afectación del 87% de enfermos con la EP (Cersosimo et al., 2013).

Se trata de una enfermedad multifactorial en la cual la genética y los factores ambientales juegan un papel esencial en su desarrollo. En los últimos años, numerosas evidencias señalan la importancia de la microbiota como factor ambiental en la EP. El estreñimiento podría ser un precursor de la enfermedad, mostrando así el importante papel de los factores ambientales tanto en el inicio como en la progresión de la enfermedad (Keshavarzian et al., 2015; Scheperjans et al., 2015; Sampson et al., 2016; Unger et al., 2016).

3.1.1. Patología microbiana en la EP

a. *Acumulación de α -sinucleína en el sistema nervioso entérico*

La α -sinucleína es una proteína abundante en el SNC, presente sobre todo en las terminaciones presinápticas. Está involucrada en la regulación de los neurotransmisores y la homeostasis sináptica. Una de las características patológicas de la EP es la presencia de las inclusiones eosinofílicas de α -sinucleína en el citoplasma en forma de cuerpos de Lewy en las células del soma y las neuritis de Lewy en los axones y las dendritas. Se ha descrito que la α -sinucleína podría actuar como una proteína priónica en la patogénesis de la EP. De esta manera, las proteínas mal plegadas de la α -sinucleína actuarían como proteínas “infecciosas” acumulándose dentro de las neuronas (Jucker y Walker, 2013; Visanji et al., 2013).

Múltiples estudios clínicos han demostrado que los pacientes con Parkinson expresan esta proteína en el sistema nervioso entérico (SNE) (Braak et al., 2006; Forsyth et al., 2011; Shannon et al., 2012; Gold et al., 2013; Gelpi et al., 2014; Sánchez-Ferro et al., 2015). Esta acumulación se asocia con el daño en las neuronas entéricas y la disfunción gastrointestinal. La afectación ocurre tanto a nivel mientérico como submucoso del intestino, principalmente desde la zona más distal del esófago hasta el recto (Beach et al., 2010).

Este proceso podría comenzar bien en el bulbo olfatorio, o bien en el SNE, originado por un patógeno desconocido, como un microorganismo (incluido en la microbiota nasal e intestinal), pesticidas y/o alguna toxina ambiental, desencadenando la inflamación de la mucosa y estrés oxidativo.

El nervio vago podría estar implicado en la expansión de la acumulación de la α -sinucleína desde el SNE hacia el cerebro por medio de la médula espinal, mesencéfalo, prosencéfalo y finalmente el área cortical. Sin embargo, cuando el proceso tiene origen en el bulbo olfatorio la afectación cerebral podría ser más directa por medio del tracto olfatorio (Braak et al., 2003; Hawkes et al., 2009; Klingelhoefer y Reichmann, 2015).

En esta línea, en estudios recientes la vagotomía troncal completa se ha visto asociada a una disminución del riesgo a desarrollar la EP, comparado con la vagotomía altamente selectiva o con la no-vagotomía (Svensson et al., 2015). Asimismo, otro estudio demostró que la administración del pesticida rotenona, a nivel gástrico puede inducir una patología con características típicas neuroanatómicas y neuroquímicas de la EP, en ausencia de niveles detectables de rotenona en el cerebro o plasma (Pan-Montojo et al., 2010).

No obstante, no es necesaria la presencia de un patógeno o una toxina ambiental para la aparición de alteraciones intestinales en enfermos con la EP, puesto que la propia microbiota intestinal sería suficiente para desencadenar la disbiosis proinflamatoria y el desarrollo de la patología en esta enfermedad (Keshavarzian et al., 2015).

b. *Cambios en la composición bacteriana intestinal*

Los pacientes con la EP tienen un aumento de la permeabilidad intestinal que se correlaciona con la acumulación de α -sinucleína (Forsyth et al., 2011). El incremento de

la permeabilidad y la translocación bacteriana y de los productos inflamatorios bacterianos, por ejemplo, el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina, componente mayoritario de la membrana externa de las bacterias gram negativas, podría provocar la inflamación y estrés oxidativo que se observa en el tracto GI de estos pacientes con la EP y producir la acumulación de la α -sinucleína en el SNE (Forsyth et al., 2011). Junto con esto, el LPS proveniente del intestino puede promover la disrupción de la barrera hematoencefálica (BHE), facilitando así la neuroinflamación y el daño del Sistema Nervioso (SN) (Banks et al., 2008; Banks and Erickson, 2010). Además, biopsias de estos pacientes revelan un incremento en la expresión de citoquinas proinflamatorias como, TNF- α , IFN- γ , IL-6 e IL-1, así como un aumento de la activación de las células gliales entéricas (Devos et al., 2013).

Existen múltiples evidencias que demuestran alteraciones en la microbiota en los pacientes parkinsonianos. El primer estudio en demostrarlo, publicado en 2015 (Scheperjans et al., 2015), encontró una disminución de *Prevotellaceae* en muestra fecales de pacientes con la EP, y una abundancia de los *Enterobacteriaceae* comparado con pacientes sanos. Los niveles inferiores de *Prevotellaceae* producen una disminución en los niveles de los ácidos grasos de cadena corta neuroactivos y aumenta la capacidad de la biosíntesis de tiamina y folato, lo cual podría explicar la disminución de los niveles de vitaminas observada en los enfermos de Parkinson. Asimismo, la disminución de *Prevotella* podría estar relacionado con una menor síntesis de mucina, la cual está asociada con el incremento de la permeabilidad intestinal, intensificando así la translocación de los antígenos bacterianos (Brown et al., 2011; Forsyth et al., 2011). Además, niveles bajos de *Prevotella* junto con una abundancia de *Lactobacillaceae* se ha asociado a una menor concentración en la hormona Ghrelina, implicada en el mantenimiento y protección de la función dopaminérgica nigroestriatal. En estos pacientes se ha observado una alteración en la secreción de ghrelina (Andrews et al., 2009; Unger et al., 2011).

Por otra parte, el grupo de Keshavarzian et al., encontró una disminución en bacterias asociadas con propiedades anti-inflamatorias, como por ejemplo en los SFCA, bacterias productoras en butirato del género *Blautia*, *Coprococcus* y *Roseburia* en muestras fecales de pacientes con la EP, pudiendo concluir así que bajos niveles de SFCA podrían estar relacionados con un aumento de la debilidad intestinal (Keshavarzian et al., 2015).

El reciente estudio de Qian et al. realizado en pacientes chinos con EP analiza y compara la microbiota de estos pacientes con los de sus respectivos cónyuges sanos (utilizados como controles) con el fin de minimizar la influencia de la dieta en los resultados. De esta manera, confirma que los sujetos con la EP presentan disbiosis en la microbiota, con un aumento en la diversidad de la misma en comparación con sus cónyuges controles (Qian et al., 2018). Estos resultados son compatibles con estudios previamente publicados donde pacientes americanos con la EP también mostraban estas diferencias en comparación con controles sanos (Keshavarzian et al., 2015). Si bien en el reciente estudio de Qian et al., no se llega a esclarecer el papel que ejerce la microbiota en la patogénesis de la EP, estudios realizados en animales por este mismo grupo han observado que la disbiosis de la microbiota en los ratones aparece antes de que ocurra la formación de α -sinucleína en sus cerebros, lo que podría sugerir que la microbiota sí cumple un papel en la patogénesis de esta enfermedad (Yang et al., 2018).

3.2. Enfermedad de Alzheimer (EA)

La EA es la causa más común de demencia en los ancianos, y está caracterizada clínicamente por una pérdida progresiva de la capacidad cognitiva, la cual comienza con un deterioro en la memoria. Se estima que aproximadamente 46 millones de personas viven con demencia en el mundo y su incidencia continúa aumentando significativamente (Prince Martin et al., 2015).

Existen dos procesos degenerativos que caracterizan esta patología: la amiloidogénesis, que contribuye a la formación de los filamentos de péptido β -amiloide (A β) en forma de depósitos extracelulares; y la degeneración neurofibrilar, que es el resultado de la agregación intraneuronal de los filamentos de las proteínas tau patológicas (Querfurth y LaFerla 2010). La neuroinflamación podría ser un factor involucrado en la patogénesis de la EA (Heppner et al., 2015). Si bien la etiología de esta enfermedad no se conoce por completo, se sabe que existe una interacción entre la genética y los factores ambientales (Xu y Wang, 2016). Asimismo, aunque la edad avanzada sea el mayor factor de riesgo para EA, se reconocen otros factores que también juegan un papel importante como son los antecedentes familiares, los genes de susceptibilidad y los factores de riesgo cardiovasculares. Uno de los genes que más susceptibilidad aporta es la apolipoproteína E (Apo E) (Kivipelto et al., 2001; Lambert et al., 2013). Como hemos mencionad anteriormente, cada vez hay más evidencias de la capacidad de la microbiota comensal humana para modular las funciones cerebrales y el comportamiento vía el eje microbiota-intestino-cerebro. Estudios actuales, demuestran que en esta patología, la microbiota humana también juega un papel relevante.

3.2.1. La microbiota y la EA

Como hemos ido desarrollando a lo largo de este trabajo, se está investigado el impacto de la microbiota intestinal en las funciones cerebrales, los cuales claramente demuestran la conexión existente entre la microbiota y las funciones cognitivas. Como la EA se caracteriza por un deterioro en las capacidades cognitivas, hay razones para especular sobre el papel que pueda tener la microbiota intestinal en el desarrollo de la EA (Mancuso y Santangelo, 2018). La metodología utilizada hasta el momento para estudiar el papel de la microbiota en la EA incluye modelos animales libres de gérmenes, la administración de antibióticos y probióticos, modelos de infecciones microbianas, y el trasplante fecal (TF).

a. *Animales libres de gérmenes*

Los ratones LG, libres de colonización de su tracto GI, muestran deficiencias en la memoria espacial y la memoria de trabajo y una reducción en la expresión de BDNF en el hipocampo (Gareau et al., 2011). En línea con estos resultados, un estudio postmortem realizado con pacientes que padecían EA se ha observado una reducción de los niveles de BDNF en cerebro y plasma (Carlino et al., 2013).

Este descenso significativo en la expresión de mRNA de BDNF en el hipocampo, se ha encontrado solamente en animales LG machos, puesto que en ratones LG hembras estos niveles están aumentados; lo que podría indicar que la expresión de BDNF varía dependiendo del sexo (Clarke et al., 2013; Neufeld et al., 2011).

Por otra parte, los ratones LG mostraron un incremento en la neurogénesis en el hipocampo adulto comparado con animales con una flora intestinal convencional (Ogbonnaya et al., 2015). El hipocampo es esencial en el proceso cognitivo, juega un papel importante en el procesamiento de la información y en el almacenamiento de la memoria. Los ratones LG muestran inmadurez en la microglía y defectos en la proporción de la misma, produciendo así una respuesta inmune innata alterada la cual podría contribuir en la patogénesis de las enfermedades neurológicas, entre ellas la EA (Erny et al., 2015).

En la corteza y el hipocampo de estos ratones Sudo et al., encontraron disminución en la subunidad NR2A de los receptores de N-metil-D-aspartato (R-NMDA, receptores ionotrópicos, un tipo de receptores de glutamato formado por combinaciones de diferentes subunidades: NR1, NR2 y NR3), un tipo de receptores de glutamato presente en las sinapsis neuronales, implicado en la plasticidad de la sinapsis y las funciones cognitivas (Sudo et al., 2004). Concretamente, la alteración de la activación del receptor de NMDA podría ser vital en la disfunción de la sinapsis dependiente de A β observado en la EA (Lakhan et al., 2013).

El déficit en la plasticidad de las sinapsis es uno de los muchos cambios que ocurre con la edad. El hipocampo está implicado en la potenciación a largo plazo (LTP), proceso fisiológico que forma la base de los eventos cognitivos del hipocampo. La LTP se ha visto alterada en los modelos animales de la EA. Los estudios indican que la LTP empieza a disminuir en animales ancianos (Lynch, 2004). Un estudio reciente ha demostrado la posibilidad en la atenuación en el déficit de LTP en estos ratones de más edad (20-22 meses, 550-600g) comparado con ratones más jóvenes (3 meses, 250-350g) cambiando la composición de la microbiota intestinal con VSL#3, una mezcla probiótica compuesta por 8 bacterias gram-positivas (Distrutti et al., 2014). Este estudio demuestra que el déficit del LTP se atenúa en ratones de edad tratados con VSL#3 junto con una ligera disminución en el descenso de los marcadores de la activación de la microglía y un aumento en la expresión de BDNF y de la sinapsina. Asimismo, los animales tratados con esta combinación demuestran un cambio significativo de la microbiota con incremento de *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*. Aun así, aunque estos hallazgos indiquen la posibilidad de la manipulación de la microbiota intestinal para su efecto beneficioso en la función neuronal modulando a la activación de la microglía, se necesitan más estudios con diferentes probióticos que nos permita establecer su adecuada utilización en la modificación de la maduración y función de la microglía.

b. Antibióticos

La administración de antibióticos de amplio espectro es uno de los métodos más usados para producir la disbiosis intestinal, obteniendo una disminución en la diversidad y abundancia de la microbiota. Wang et al. tras utilizar ampicilina en ratones vieron que éstos presentaban una disbiosis en la microbiota, un cambio en el comportamiento con elevación de la ansiedad y una disminución en los receptores NMDA en el hipocampo (Wang et al. 2015). En otros estudios, el tratamiento antibiótico se ha relacionado con una disminución de la ansiedad y cambios cognitivos junto con una reducción de los niveles de BDNF (Desbonnet et al. 2015). Minter et al. con la administración prolongada de antibióticos de amplio espectro encontró perturbaciones en la diversidad de la

microbiota intestinal, disminución en la acumulación de placas A β , y una marcada alteración en la morfología microglial de ratones con AD (Minter et al. 2016). En suma, los estudios resaltan la utilización de los antibióticos como estrategia para la modulación en la cognición de pacientes con AD por medio de la microbiota.

c. *Trasplante fecal (TF)*

Esta técnica permite reemplazar la microbiota intestinal de un individuo enfermo con el de un donante sano mediante el trasplante de heces. El trasplante fecal (TF) ha desmotado resultados favorables en las enfermedades extraintestinales en los cuales ocurre una disbiosis de la microbiota (Xu et al., 2015). Hanna et al. reveló diferencias importantes en la composición de la microbiota de animales LG, con disminución en los niveles de *Firmicute*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y un incremento de *Bacteroides* y *Tenericutes*, comparado con animales con microbiota normal (Harach et al., 2015). Cuando a estos animales LG se les administraba oralmente microbiota de donantes con microbiota convencional, mostraban un aumento de A β . Asimismo, utilizaron un tipo de ratones, los APP/PSI, y crearon modelos animales LG, ratones APP/PSI LG, y vieron que estos ratones presentaban niveles reducidos de A β en sus cerebros en comparación con ratones APP/PSI convencionales. Cuando a los ratones APP/PSI LG se les administraba oralmente muestras de microbiota de los APP/PSI convencionales los niveles cerebrales de A β aumentaban. Sin embargo, si se les colonizaba con a microbiota de animales convencionales no APP/PSI esta colonización era ineficaz en el aumento de A β en los ratones LG APP/PSI. Por otra parte, se ha sugerido que la colonización de manera oral de ratones APP/PSI convencionales con la microbiota de ratones jóvenes no APP/PSI durante 4 meses podría mejorar la capacidad de aprendizaje y memoria. Así, el TF podría considerarse en un futuro un tratamiento prometedor en la EA, ya que la composición de la microbiota podría afectar de manera positiva la cognición de sujetos afectados de esta enfermedad. No obstante, aún quedan muchas preguntas por resolver en esta área en cuanto al método óptimo, la seguridad del proceso y las consecuencias a largo plazo se refiere (Borody et al., 2013).

3.2.2. La asociación entre la microbiota intestinal y el desarrollo de obesidad, Diabetes Mellitus de tipo 2 (DM2) y EA

Si bien aún no existen demasiados estudios sobre la implicación de la microbiota en la EA, se sabe que en las enfermedades metabólicas como en la DM2 y la obesidad (ambos factores de riesgo para el desarrollo de EA) se produce una alteración en la microbiota y un aumento en la expresión de agentes inflamatorios que contribuyen al inicio de la EA (Caballero, 2004; Luchsinger et al., 2004). La obesidad es considerada clínicamente como un estado crónico de bajo grado de inflamación, y es un factor de riesgo para el desarrollo de DM2. Asimismo, se estima que aproximadamente el 81% de los pacientes con la EA tiene DM2 o una deficiencia en el metabolismo de la glucosa.

Diferentes mecanismos podrían explicar la relación entre las alteraciones de la microbiota intestinal en la obesidad y en la DM2, y el desarrollo de la EA. Un estudio reciente mostró diferencias en la composición y diversidad de la microbiota en pacientes obesos, comparado con una población de pacientes no obesos (Festi et al., 2014). En estos pacientes obesos, como consecuencia de la alteración en la microbiota, se observa

un aumento en la permeabilidad intestinal, que contribuye a la inflamación sistémica, originando finalmente resistencia a la insulina y DM2. A su vez, la resistencia a la insulina y la DM2 son factores de riesgo para el desarrollo de la EA; ya que la inflamación producida por la deficiencia de la insulina y la hiperglucemia podría producir un incremento de la expresión de agentes inflamatorios que contribuyan al inicio de la EA (Everard y Cani, 2013). Asimismo, agonistas del receptor del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) protegen al cerebro del funcionamiento defectuoso de la insulina y mejoran la cognición en ratones con la EA (Bomfim et al., 2012).

Por otra parte, en un estudio realizado en animales de experimentación, se ha observado que dietas ricas en grasas duplican e incluso triplican los niveles séricos de lipopolisacáridos (LPS) que pueden contribuir a una ligera inflamación, resistencia a la insulina y finalmente DM2 (Cani et al., 2008). De la misma manera, se ha demostrado que en los pacientes con la EA, los niveles plasmáticos de LPS son aproximadamente tres veces mayor que en los controles sanos (Zhang et al., 2009). Además, estos niveles plasmáticos de LPS se correlacionan negativamente con el número de *Bifidobacterium*, conocidos por mantener la integridad de la barrera intestinal y prevenir la translocación bacteriana y de endotoxinas. Así, la microbiota intestinal podría actuar como un conector de la obesidad, la endotoxemia y la EA. Igualmente, niveles bajos de SCFA podrían facilitar la activación microglial, inducido por aumento de los niveles de LPS o amiloides bacterianos en el SNC, probablemente involucrados en el desarrollo de la EA (Wang et al., 2006; Ruan et al., 2007). Adicionalmente, se ha visto que los cambios vasculares producidos como consecuencia de la obesidad y de la DM2, podrían producir cambios en la microbiota y contribuir al desarrollo de la EA (Ochoa-Repáraz y Kasper, 2016).

No obstante, si bien las alteraciones de la microbiota intestinal en la diabetes y la obesidad parecen ser un factor de riesgo para el desarrollo EA, se necesita profundizar más para llegar a conocer los microorganismos específicos y los mecanismos exactos implicados en la relación entre la obesidad, la DM2 y la EA.

3.2.3. El papel del lipopolisacárido (LPS) derivados de bacterias en la patogénesis de la EA

Las bacterias poseen una enorme capacidad de excretar grandes cantidades de LPS y amiloide (Kumar et al., 2016), los cuales podrían contribuir en la patogénesis de la EA, especialmente durante el envejecimiento ya que es aquí cuando el epitelio gastrointestinal y la barrera hematoencefálica son más permeables (Zhao y Lukiw, 2015; Zhao et al., 2015; Kohler et al., 2016)

Se ha observado que la infusión crónica de LPS en el cuarto ventrículo de las ratas puede inducir numerosos rasgos inflamatorios y patológicos típicos de la EA (Haus-Wegrzyniak y Vraniak, 2000). Asimismo, un reciente estudio ha demostrado cómo la LPS bacteriana puede potenciar la fibrinogénesis de los péptidos A β (Asti y Gioglio, 2014). Ratones tratados crónicamente con LPS, administrado intraperitonealmente, mostraban niveles más elevados de A β en el hipocampo junto con déficits cognitivos (Kahn et al., 2012). Además, tras la administración intraperitoneal de LPS a ratas, se observa un aumento del flujo desde la sangre hacia el cerebro, mientras que disminuyen el flujo en sentido

inverso, es decir, desde el cerebro hacia la sangre, favoreciendo así la acumulación de A β en el cerebro (Jaeger et al., 2009). Otro estudio reciente ha demostrado que el LPS de los *Bacteroides fragilis* (BF-LPS), resulta un potente inductor para la transcripción del factor proinflamatorio NF κ B (p50/p65), conocido por su papel en la inflamación neurodegenerativa de la EA en las neuronas cerebrales humanas (Lukiw, 2016).

Del mismo modo, el LPS de muchas cepas bacterianas (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *Mycobacterium tuberculosis*, y *Staphylococcus aureus*) podría contribuir en la patogénesis de la EA mediante la acumulación de oligómeros y fibrillas A β mal plegadas (Schwartz y Boles, 2013; Hufnagel et al., 2013)

Recientemente se sugiere que la aglutinación de proteínas con comportamiento priónico, debido a un mal plegamiento de los mismos, podría ser un fenómeno compartido por diferentes enfermedades neurodegenerativas, la EA entre otros. Con esta hipótesis, se empieza a creer que la fuente de ciertas proteínas mal plegadas que posteriormente se acumulan en el cerebro, como la A β , sean las bacterias intestinales, contribuyendo de esta manera a la activación del sistema inmune innato y a la neuroinflamación (Friedland, 2015; Chen et al., 2016). De esta manera, la EA se podría considerar como una enfermedad prion-like, por la acumulación de la A β mal plegada, produciendo activación del sistema inmune innato, neuroinflamación y su autopropagación y la consiguiente disfunción del SNC (Prusiner, 2012).

3.3. Esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad neuroinflamatoria desmielinizante crónica del SNC. Su presentación clínica es variable con déficit sensitivos, motores y/o cognitivos, típicamente precedidos de inflamación y lesiones en la sustancia blanca del SNC, que se resuelven dejando una cicatriz gliótica, con desmielinización, pérdida de oligodendrocitos y daño axonal. Se piensa que se trata de una enfermedad autoinmune causada por células T que responden de forma aberrante contra los propios péptidos de la mielina (Stinissen et al., 1997). La respuesta de las células T encefalíticas en el SNC desencadena una infiltración de células inmunes, produciendo inflamación, desmielinización y neurodegeneración (Yadav et al., 2015)

La etiología de esta enfermedad es compleja y no bien conocida, implicados tanto factores genéticos como ambientales, que se inicia en pacientes genéticamente predispuestos expuestos a determinados factores ambientales que actúan fundamentalmente en la infancia (Ascherio et al., 2012). Los factores genéticos representan alrededor del 30% del riesgo para la enfermedad, donde los genes para el antígeno leucocitario de histocompatibilidad (HLA) juegan el papel más importante en lo que al componente genético se refiere (Ebers et al., 1986; Hollenbach y Oksenberg, 2015). Los factores no genéticos representan el 70% del riesgo para el desarrollo de la EM, y entre ellos se encuentran; el virus de Epstein-Barr, el tabaco, la latitud y los niveles bajos de la vitamina D; y recientemente están en estudio factores no tan conocidos como la ingesta de sodio, el índice de masa corporal elevado en la adolescencia, la vitamina A, la leptina y el alcohol; o los factores relacionados con la teoría de la higiene, defectos en el contacto con helmintos o con *Helicobacter pylori* e incluso la microbiota

intestinal, ya que evidencias recientes sugieren su papel en la contribución tanto para la susceptibilidad del desarrollo como para la protección de la EM.

3.3.1. La EM y la microbiota intestinal

Diversos estudios recientes determinan que los pacientes con EM presentan alteraciones de la microbiota intestinal (Miyake et al., 2015; Cekanaviciute et al, 2015; Jangi et al., 2016; Chen et al., 2016; Cosorich et al., 2017).

La mayoría de los estudios del microbioma realizados en pacientes con EM han demostrado una disminución en la abundancia de *Prevotella* y *Parabacteroides* pertenecientes a los Bacteroidetes en pacientes con EM en comparación con controles sanos (Cekanaviciute et al, 2015; Miyake et al., 2015; Jangi et al., 2016; Chen et al., 2016; Cosorich et al., 2017). Además, se han observado niveles aún más bajos de *Prevotella* en biopsias duodenales de pacientes con enfermedad activa que en pacientes en remisión o controles sanos, junto con un aumento de *Prevotella* después del tratamiento médico de estos pacientes. Así, la disminución de bacterias del filo Bacteroidetes en diferentes grupos sugieren que bacterias pertenecientes a este filo podrían tener un papel importante en la protección para la EM (Cosorich et al., 2017).

Niveles de ciertos géneros bacterianos pertenecientes al filo Firmicutes se han observado incrementados (Miyake et al., 2015; Chen et al., 2016) o disminuidos (Cantarel et al., 2015; Tremlet, et al, 2016) en pacientes con EM. Incluso se han visto discrepancias en la asociación de los Firmicutes en pacientes con EM entre diferentes laboratorios. Estas discrepancias se podrían deber a la especificidad de los cebadores de ARN ribosomal 16S (16S rRNA) utilizados para el análisis del microbioma y/o las diferencias en la población de pacientes usado en cada estudio (Shahi, et al., 2017).

En el caso de la Proteobacterias, se ha observado un aumento en ciertas bacterias (*Pseudomonas*, *Sutterella*, *Akkermansia*) pertenecientes a este filo en pacientes con EM (Chen et al., 2016).

Sin embargo, ante la gran variabilidad observada en el microbioma de pacientes con EM en los diferentes estudios, debemos ser cautelosos en la interpretación de los resultados. Estos estudios en su conjunto parecen indicar que no existe una microbiota intestinal característica que se asocie a la EM, sino que existe una disbiosis en la microbiota de estos pacientes que conlleva una alteración en la composición de la misma cambiando el balance inmune hacia un fenotipo inflamatorio (Shahi et al., 2017).

Basándonos en esta hipótesis, pacientes con EM presentan un incremento general en bacterias proinflamatorias, en lugar de tener un incremento o disminución en bacterias específicas. Se ha visto que ciertos géneros bacterianos están disminuidos (*Prevotella*) mientras otros están aumentados (*Akkermansia*). Pero en general, la alteración de la microbiota en un grupo de pacientes con EM no representa el estado de la microbiota intestinal de todos los pacientes con esta enfermedad. El siguiente paso sería determinar el significado funcional de estas diferencias, así como los mecanismos mediante los cuales la microbiota intestinal modula, bien protegiendo o predisponiendo para la EM, la respuesta inmune del huésped.

3.3.2. Metabolismo de SCFA

Como anteriormente hemos visto, los SCFA pueden modular las funciones inmunes de las células entéricas intestinales, mediante la alteración de la integridad de barrera intestinal y producción de citoquinas en respuesta a estímulos inflamatorios. El tratamiento *in vitro* de las células entéricas intestinales con SCFA disminuye la producción de citoquinas proinflamatorias en general (Macia et al., 2015).

De esta manera, se ha visto que ciertas bacterias que participan en el metabolismo de los SCFA están disminuidas en la EM, entre ellos se encuentran *Clostridium*, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Butyrivibrio*, *Bacteroides* y *Prevotella*. La especie *Clostridium*, comensal importante de la microbiota y fuertemente relacionado con el metabolismo de SCFA, así como con el mantenimiento de la homeostasis induciendo las células T reguladoras FoxP3+, están disminuidos tanto en pacientes con EM como en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (Lopetuso et al 2013; Rios-Covian et al., 2016; Morrison et al, 2016). La mayoría de los datos que se conocen hoy día sugieren que una reducción en bacterias productores de SCFA contribuye a un estado proinflamatorio en pacientes con EM.

En esta línea, se han utilizado modelos animales con encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE), un modelo animal de EM, donde se ha demostrado que el tratamiento con SCFA induce Tregs en el intestino y mejora la EAE (Hafhikia et al., 2015). Otros estudios (Chitralla et al., 2017; Mizuno et al., 2017) han demostrado que el trasplante fecal de donantes CD4^{-/-} a huéspedes salvajes mejora la EAE, y este hecho se atribuye a un aumento de SCFA. También se ha observado una mejora de la EA en ratones mediante el tratamiento oral con SCFA o una dieta rica en fibra (Mizuno et al., 2017).

3.3.3. Fitoestrógenos

Los fitoestrógenos son compuestos químicos no esteroideos, que se encuentran en los vegetales, son similares a los estrógenos humanos y con una acción similar. Se identifican varias formas: isoflavonas, prenylflavonoides, lignanos y cumestanos. Las bacterias intestinales son esenciales para su metabolización (Sakai y Kogiso, 2008; Rietjens et al., 2017). Los fitoestrógenos pueden tener su influencia en diversos aspectos de la inmunidad, tanto a nivel intestinal como sistémico. Modulan el funcionamiento celular del huésped, en células intestinales y en las células entéricas intestinales que expresen el receptor estrogénico (ER), especialmente el ERβ. Además, los isoflavones pueden suprimir la producción de citoquinas proinflamatorias y proporcionar efectos protectores a la función de barrera de las células entéricas intestinales (Konstantinopoulos et al., 2003). También son capaces de inhibir la síntesis de NO dependiente de LPS y modular el fenotipo de las células inmunes en el intestino, inhibiendo la actividad de macrófagos/monocitos, la activación de NF-κB y la producción de citoquinas proinflamatorias tras la estimulación de LPS *in vitro* (Calvellido et al., 2016). Por otra parte, los metabolitos de los fitoestrógenos, que en condiciones normales se encuentran en sangre, pueden acceder al SNC y proteger contra amenazas neurodegenerativas ya que diferentes regiones del SNC expresan el ER (Zhao et al, 2009;

Zhao et al., 2011). Estas observaciones sugieren que los metabolitos bacterianos no solo modulan al sistema inmune, sino que también tienen influencia directa en el SNC.

Como hemos mencionado anteriormente, los pacientes con EM tienen niveles reducidos de *Prevotella*, *Parabacteroides*, *Adlercreutzia*, *Slackia*, and *Lactobacillus*, todos ellos involucrados en el metabolismo de los fitoestrógenos. Se ha demostrado que las especies *Prevotella* metabolizan los fitoestrógenos hacia metabolitos beneficiosos, los cuales podrían contribuir a los efectos anti-inflamatorios (Schogor et al., 2014). La capacidad de *P.histicola* en la producción de Tregs y en la supresión de EAE en ratones deficientes de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (major histocompatibility complex (MHC) class II) sugiere que la metabolización de los fitoestrógenos por *Prevotella* podría ser uno de los mayores mecanismos en la supresión de la enfermedad (Mangalam. et al., 2017). El *Lactobacillus* podría aportar efectos anti-inflamatorios en las células inmunes, mediante la posible bioconversión de los fitoestrógenos (Eslami et al., 2016; Rekha y Vijayalakshmi, 2010).

Con todas estas evidencias, es razonable pensar que los fitoestrógenos y sus metabolitos podrían conferir protección frente a EAE y/o EM mediante la respuesta anti-inflamatorios que inducen. Diversos estudios han demostrado que la administración terapéutica de fitoestrógenos mejora la EAE, el cual está relacionado con una disminución en la producción de citoquinas proinflamatorias y aumento de las citoquinas anti-inflamatorias (De Paula et al., 2008; Wei et al., 2015).

3.3.4. Metabolismo del triptófano

Como hemos mencionado al principio, el triptófano es un aminoácido esencial abundante en alimentos ricos en proteínas, se metaboliza por ciertas bacterias intestinales que modulan la barrera intestinal y las células del sistema inmune mediante la activación del receptor de dioxina (AhR: *aryl hydrocarbon receptor*) (Rooks et al., 2016; Zhan y Davis, 2016). El AhR desempeña un papel importante en la regulación de la respuesta inmune de la mucosa, como se ha demostrado en casos de alteraciones microbianas en ratones que carecen del gen AhR (*AhR^{-/-}*) (Korecka, et al., 2016). Además, la síntesis de ligandos del AhR por las bacterias comensales confiere protección para la inflamación e interfiere en la expresión de genes tanto pro- como anti-inflamatorios (Zhan y Davis, 2016).

El *Lactobacillus*, que se encuentra disminuido en pacientes con EM, está involucrado en el metabolismo del triptófano (Chen et al., 2016; Rooks et al., 2016). Cuando se transfiere mediante trasplante fecal *Lactobacillus* a ratones genéticamente susceptibles para la colitis, se observa una atenuación de la inflamación AhR-dependiente (Lamas B et al., 2016). Además se ha visto que la bacteria comensal *P.histicola* inhibe el desarrollo de EAE en los ratones HLA transgénicos. El tratamiento con *P.histicola* atenúa la inflamación y la desmielinización, y reduce la permeabilidad de la BHE comparado con ratones no tratados con *P.histicola*, puesto que disminuye la expresión de ciertas citoquinas proinflamatorias como la IFN γ e IL-17, y aumento los niveles de *Lactobacillus*. (Mangalam, et al., 2017).

Asimismo, la administración de metabolitos de triptófano microbianos a ratones reduce la inflamación del SNC y la EAE. Además, pacientes con EM tienen niveles plasmáticos más bajos de agonistas AhR comparado con pacientes sanos (Rothhammer et al., 2016).

3.3.5. Antibióticos y probióticos en la EM

Según diversas investigaciones, los ratones LG no desarrollan EAE como consecuencia de la atenuación de la respuesta de Th17 y células B autorreactivas (Berer et al., 2011). En ratones LG se ha visto que la microbiota comensal es esencial para el desarrollo del EAE, puesto que se produce una disminución de IFN- γ e IL 17 y un aumento de Foxp3+Tregs (Lee et al., 2011). La modulación antibiótica de la microbiota controla la progresión de la EAE mediante diversos mecanismos celulares (Ochoa-Reparaz et al. 2009; Lee et al., 2011). Este estudio de Ochoa-Repáraz et al., utilizó una combinación de antibióticos de amplio espectro (ampicilina, vancomicina, neomicina y metronidazol) para reducir la microbiota intestinal en ratones con EAE. El tratamiento con antibióticos reducía sustancialmente la carga bacteriana de la flora intestinal y disminuían significativamente los síntomas clínicos de la EAE, lo cual sugiere que la colonización por ciertas bacterias es necesaria para el desarrollo y persistencia de la EAE en ratones. Este estudio también demostró que niveles bajos de células CD4+CD25+ Foxp3+ (Tregs) en ratones tratados con antibióticos orales confiere protección frente a la EAE; puesto que en los ratones tratados estas células mostraban una producción más intensa de IL-10 en comparación con los ratones no tratados con antibióticos (Ochoa-Repáraz et al., 2009).

Si bien no se sabe cómo la microbiota intestinal afecta a pacientes con EM, un alto porcentaje de pacientes con EM presentan anticuerpos contra antígenos gastrointestinales en comparación con grupos controles sanos (Banati et al., 2013).

El tratamiento con una única bacteria o con una mezcla de bacterias podría modular la EAE. Así, ratones sometidos al tratamiento crónico con el probiótico *Bifidobacterium* mediante administración oral muestran una reducción en la duración de los síntomas en de la EAE (Ezendam y van Loveren, 2008). El probiótico *Lactobacilli* administrado solo o en combinación con otras cepas bacterianas como las del género *Bifidobacterium*, contribuyen también de forma eficaz en el alivio de los síntomas de EAE en ratas mediante la regulación de citoquinas tanto pro- como anti-inflamatorias. El tratamiento con el probiótico *B. fragilis* o *Pediococcus Lacidilactici* también ha reducido significativamente la susceptibilidad de desarrollar EAE en un modelo experimental (Ochoa-Reparaz et al., 2010a; Takata et al., 2011).

Varios de los productos microbianos aislados pueden reproducir el efecto biológico del propio microorganismo en el huésped. Algunos de estos productos se han podido utilizar como potentes armas terapéuticas en la EAE. El PSA del *B. fragilis* confiere protección tanto profiláctica como terapéutica contra la EAE mediante la inducción de CD103+DCs en nódulos linfoides del SNC (Ochoa-Reparaz et al., 2010c).

3.3.6. La dieta en la EM

Finalmente, se ha estudiado la posible influencia de la dieta en el desarrollo de EAE. Las dietas ricas en grasas aumentan la severidad de EAE. En cambio, las restricciones calóricas atenúan los síntomas de EAE relacionadas con cambios, hormonales, metabólicos y de las citoquinas, más que con la supresión inmune. Asimismo, ratas alimentadas con dietas ricas en sal desarrollan una forma más severa de EAE, por la propia capacidad del cloruro sódico en la activación de las células Th17 (Piccio et al. 2008; Kleinewietfeld et al., 2013).

4. LA MICROBIOTA Y ENFERMEDADES NEUROPSIQUIÁTRICAS

En la última década, la influencia que ejerce la microbiota intestinal sobre las patologías que afectan al SNC se ha convertido en un tema relevante y de gran actualidad. Aunque este trabajo ha centrado el foco en revisar, principalmente, los estudios experimentales y clínicos en relación con la microbiota y su papel en patologías neurodegenerativas, cabe destacar que, los primeros estudios se dirigieron a investigar el papel de la microbiota en patologías que afectan al comportamiento, como son la depresión, y la ansiedad. A continuación, aunque de forma más breve, se comentarán los trabajos más relevantes en los que se implica la microbiota intestinal con el desarrollo de patologías neuropsiquiátricas (depresión, ansiedad, autismo, esquizofrenia, etc).

En estudios realizados con ratones LG se ha observado que estos animales muestran deficiencias en los comportamientos de interacción social. El equipo de John Cryan estudió el comportamiento de estos ratones en el test de los tres compartimentos y observaron que los ratones LG pasaban mucho más tiempo con sus familiares que con ratones nuevos, al contrario que los ratones colonizados convencionalmente que pasaban más tiempo con los ratones nuevos (Desbonnet et al., 2014). También observaron que los ratones LG pasaban más tiempo con un objeto o en una habitación vacía que con los otros animales, lo que se considera un comportamiento social anormal. La colonización de los ratones LG normalizó solo parcialmente estas alteraciones en la sociabilidad (Desbonnet et al., 2014).

Se sabe que la oxitocina es un modulador del comportamiento social, y hay evidencias que indican que sus niveles están regulados en parte por la microbiota intestinal (Chini et al., 2014; Erdman et al., 2016). De hecho, se ha observado cómo la reducción de la microbiota intestinal en la adolescencia temprana reduce los niveles de la expresión de oxitocina en el cerebro adulto (Desbonnet et al., 2015). Incluso se ha visto que la administración de una única bacteria probiótica (de la especie de *Lactobacillus reuteri*) es capaz de modular los niveles de oxitocina y revertir algunas alteraciones del comportamiento, aumentando las capacidades de interacción con el entorno (Erdman et al., 2016).

4.1. Trastorno del espectro autista (TEA)

El trastorno del espectro autista (TEA) se asocia frecuentemente con co-morbilidades gastrointestinales, de hecho, estudios recientes han demostrado alteraciones en la microbiota intestinal en niños autistas, con cambios en los niveles de la especie de *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, con abundancia de *Clostridium*, estableciendo una fuerte

relación entre la microbiota y el TEA (Finegold et al., 2010; Tomova et al., 2015;). Los investigadores además establecen una relación entre un incremento en la diversidad de la microbiota, con abundancia de *Bacteroidetes*, y la mayor severidad de este trastorno. También se han visto alteraciones de otros comensales en estos niños con autismo pero sin una clara relación con esta patología (Finegold et al., 2010). Un estudio reciente ha mostrado un aumento significativo de los niveles de SCFA en muestras fecales de niños con autismo (Wang et al., 2010). Todos estos hallazgos sugieren de una forma más convincente la estrecha relación existente entre las alteraciones en la composición de la microbiota, su función y el TEA. Sin embargo, no se conoce en profundidad el papel del SCFA en este trastorno. Se ha visto que la administración de butirato en modelos animales de TEA mejora los síntomas repetitivos de esta enfermedad, mientras que la infusión intra-cerebroventricular del ácido propiónico induce comportamientos autistas en ratas, lo que sugiere que el SCFA podría tener además un papel clave en la modulación del comportamiento en estos los enfermos de autismo (Thomas et al., 2012).

En humanos, la exposición prenatal al valproato (anticonvulsionante con uso importante en psiquiatría como estabilizante del humor) aumenta el riesgo de autismo en el niño (Christensen et al., 2013), y en modelos animales coincidiendo con cambios en el comportamiento debidos al valproato, se han observado cambios en la microbiota intestinal (de Theije et al., 2014).

Por otra parte, la obesidad materna se ha relacionado con deficiencias en el desarrollo neurológico en sus descendientes, como por ejemplo el trastorno del espectro autista. En esta línea, estudios experimentales en ratones han mostrado que, tras inducir la obesidad en las madres mediante una dieta rica en grasas, las crías manifestaron déficits en el comportamiento social. Los ratones de madres obesas presentaban alteraciones en su capacidad de interactuar socialmente con otros ratones, tardando más tiempo en interactuar con otros ratones comparado con los ratones de madres no obesas. Estas alteraciones sociales se asociaron a alteraciones en la microbiota (Buffington et al., 2016).

4.2. Depresión

La depresión es un trastorno del humor resultado de alteraciones neuropsiquiátricas y disregulación inmunológica. Los probióticos han demostrado su eficacia en la supresión de la depresión en modelos animales. Se ha visto una disminución en las especies del género de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en pacientes con depresión (Aizawa et al., 2016). El estudio realizado por Gareau et al., demostró que la disminución en la colonización por la especie *Lactobacillus* en ratones expuestos a factores estresantes desde el nacimiento (separación materna neonatal) producía alteraciones en la barrera intestinal, disminución en la secreción de iones y un aumento de la permeabilidad para macromoléculas en estos animales. Todos estos cambios se revertían al tratarlos con probióticos *Lactobacillus* (Gareau et al., 2007). Otros estudios recientes han encontrado alteraciones de la microbiota en pacientes con depresión mayor, con incrementos de bacterias del género *Eggerthella*, *Holdemania*, *Gelria*, *Turicibacter*, *Paraprevotella* y *Anaerofilm*, mientras que se observa una reducción en *Prevotella* y *Dialister* (Jiang et al., 2015)

Por otra parte, cuando la microbiota de pacientes con depresión mayor se trasfiere mediante trasplante fecal a animales de experimentación naïve, el comportamiento y características psicológicas de la depresión también se transfieren a estos animales, lo que indica una posible relación entre la microbiota y la depresión (Kelly et al., 2016).

En la misma línea, diferentes dietas podrían tener efectos positivos o negativos en la depresión. La dieta “occidental” (caracterizado por un consumo elevado de carnes rojas, azúcar, grasa, sal y harinas refinadas) parece tener relación con un incremento del riesgo de depresión, mientras que la dieta mediterránea parece atenuar su aparición. Asimismo, estudios tanto en modelos animales como en humanos han demostrado la disminución de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y la depresión mayor, sugiriendo así el papel de la dieta en el inicio de la depresión (Grosso et al., 2014).

De esta manera, el tratamiento con diferentes probióticos, sobre todo, los que son ricos en el género *Lactobacillus* han logrado mejorar los síntomas de la depresión y ansiedad en modelos animales (Dinan et al., 2013)

5. LA MICROBIOTA INTESTINAL COMO DIANA TERAPÉUTICA

5.1. Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que proporcionan beneficios para la salud. Numerosos estudios, tanto estudios preclínicos como en modelos animales, han demostrado el papel de estos en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades como en enfermedades inflamatorias intestinales, depresión, EP o EA (Akbari et al., 2016; Logan y Katzman, 2004; Butel, 2014). Si bien no se conoce con exactitud el mecanismo de acción por el cual actúan, los resultados beneficiosos que aportan son incuestionables. Se piensa que podrían alterar positivamente el componente de la microbiota y proteger la integridad de la barrera intestinal, estimular la homeostasis del sistema inmune, especialmente en el caso de la autoinmunidad del SNC e inhibir el crecimiento de bacterias patógenas. Además, algunas cepas podrían estimular la motilidad y reducir la disfunción del tracto gastrointestinal (Ait-Belgnaoui et al., 2012; Corridoni et al., 2012)

Las principales bacterias que se usan para la alteración de la composición y diversidad de la microbiota intestinal son las bacterias *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* productoras de ácido láctico, que además tienen la capacidad de estimular el IL-10+Foxp3+Tregs, y la bacteria *B.fragilis* (Takata et al., 2011; Kwon et al., 2013).

Existen evidencias demostradas, no solo en estudios animales sino también en humanos, que apoyan la relación de los probióticos con trastornos como la ansiedad, el estrés y la depresión (Messaoudi et al., 2011a; Messaoudi et al., 2011b).

La modificación genética de cepas naturales representa otra estrategia probiótica. Se han elaborado fusiones entre los antígenos tolerogénicos con cepas atenuadas o inoñas como tratamiento oral contra la EAE. Los probióticos podrían mitigar enfermedades neuropsiquiátricas mediante mecanismos hormonales y neuroquímicos, y actuar como ansiolítico en múltiples trastornos neuropsiquiátricos (Ochoa-Reparaz et al., 2007, 2008; Rezende et al., 2013).

Igualmente, en la enfermedad de Parkinson ayudan a disminuir la debilidad intestinal para reducir así la translocación bacteriana y su asociación con la inflamación del SNC. Además, no solo mejoran la funcionalidad intestinal, sino que también mejoran la absorción de levodopa y reducen los trastornos cognitivos y problemas de memoria en los pacientes con la EP (Maes et al., 2008; Liang et al., 2015).

Las investigaciones en este área son prometedoras y contribuyen a en un futuro poder entender y utilizar de una forma más precisa los probióticos, no solo para el tratamiento, sino también para la prevención de enfermedades neuropsiquiátricas en pacientes predispuestos a padecerlas.

5.2. Antibióticos

Los antibióticos alteran selectivamente la microbiota intestinal, pudiendo así resultar beneficiosos en el tratamiento de las enfermedades neuropsiquiátricas. Ratones tratados con antibióticos orales son menos susceptibles a enfermedades autoinmunes como la EAE (Ochoa-Reparaz et al., 2009, 2010b). El tratamiento antibiótico en EAE ha demostrado la disminución de citoquinas proinflamatorias, tales como IFN γ e IL-17. En estos estudios se han utilizado diferentes tipos de antibióticos los cuales producían diferentes perfiles de microbiota. En ratones el tratamiento con antibióticos disminuye la respuesta al estrés y aumenta la conducta exploratoria; mientras que, en humanos, en niños con autismo más concretamente, ofrecen beneficios a corto plazo en la regresión de la enfermedad al comienzo de la misma. Además, a nivel luminal reducen la concentración de LPS y producen cambios en las señales del SNC como en la expresión de BDNF en el hipocampo (Sandler et al., 2000; Bercik et al., 2011a; Ait-Belgnaoui et al., 2012).

En conclusión, los antibióticos podrían restaurar el defecto inmune mediante los microorganismos comensales y alterar las predisposiciones a enfermedades del SNC.

5.3. Trasplante

Actualmente está en auge la idea del TF, y tras demostrar su alta efectividad en el tratamiento del *Clostridium difficile*, es en estos momentos el centro del interés científico. En los últimos años, el TF ha demostrado su aplicación en el tratamiento de ciertas enfermedades gastrointestinales como son las enfermedades inflamatorias intestinales o en el síndrome del intestino irritable (Cammarota et al., 2016). En pacientes con síndrome metabólico también se ha observado una mejora de la sensibilidad a la insulina tras el TF de donantes delgados. Estos estudios son potencialmente esperanzadores para la utilización de la microbiota intestinal como agente terapéutico en un gran abanico de enfermedades (Vrieze et al., 2012).

Más recientemente, se ha visto la eficacia y seguridad del TF en la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades no gastrointestinales. Numerosos casos sugieren el beneficio del TF en el tratamiento del estreñimiento y en los síntomas no intestinales en pacientes con enfermedades neurológicas tales como el autismo o la esclerosis múltiple (Aroniadis y Brandt, 2013), mediante una posible regulación de la inmunidad por medio del eje microbiota-intestino-cerebro (Evrensel y Ceylan, 2016).

Borody et al., sometió a tres pacientes con EM y en silla de ruedas a TF de sujetos sanos. Tras el tratamiento, los síntomas intestinales de estos pacientes se resolvieron, y además en todos los casos se vio una mejoría progresiva en los síntomas neurológicos, incluso, los tres pacientes llegaron a recuperar la capacidad de andar sin ayuda. Dos de ellos tenían sondas urinarias permanentes en el comienzo del estudio y tras el trasplante recuperaron la función urinaria. 15 años después del TF uno de los pacientes fue sometido a una Resonancia Magnética, donde no se veía ninguna evidencia de enfermedad activa con una dudosa progresión de la EM (Borody et al., 2011).

Asimismo, el TF de bacterias específicas ha resultado ser eficaz en el tratamiento de algunas enfermedades. Por ejemplo, un único componente de la microbiota intestinal, el *Lachnospiraceae* restaura parcialmente la colonización intestinal tras la infección del *C. difficile*. (Reeves et al., 2012).

El estudio realizado por Sampson et al., demostró que si se hacía el trasplante fecal desde pacientes con la EP a ratones previamente sanos, éstos desarrollaban disfunciones motoras mediadas por la α -sinucleína, alteraciones que no se veían si el TF provenía de humanos sanos (Sampson et al., 2016).

También se ha visto que el TF protege a los ratones susceptibles de padecer la EP, puesto que tras el trasplante de ratones sanos presentan una reducción en la activación de la microglía y astrocitos en la sustancia negra (Sun et al., 2018).

Sin embargo, hay una gran falta de estudios *in vivo* que analicen el papel de las bacterias productoras de metabolitos y el TF. Hay muchos obstáculos así como falta de información suficiente en cuanto a la selección de donantes, de la preparación estandarizada del material a trasplantar y duración del tratamiento, y estas lagunas son aún mayores en cuanto a las enfermedades neuropsiquiátricas. Además, no se han publicado estudios controlados en humanos de TF en la EP o la EA (Endres y Schäfer, 2018).

Son por tanto necesarios estudios preclínicos para analizar y entender la implicación de la microbiota en el funcionamiento del SNC, antes de que estos tratamientos sean aplicados en humanos, y resulten finalmente accesibles para individuos que sufran este tipo de enfermedades.

6. CONCLUSIÓN

En los últimos años diversos estudios ponen de manifiesto que el desarrollo y la función cerebral depende en parte de la diversidad y composición de la microbiota intestinal, y cómo ésta puede influir en el desarrollo y/o mantenimiento de diferentes enfermedades del SNC del huésped. Sin embargo, muchos de los estudios realizados hasta ahora sólo han demostrado la asociación entre ciertos perfiles bacterianos y estados clínicos, sin llegar a esclarecer del todo si estos cambios en la microbiota son causa o, por el contrario, consecuencia de estas enfermedades. Este concepto de la comunicación bidireccional microbiota-cerebro se ha visto reforzado mediante los experimentos donde tras la realización de trasplantes fecales los animales receptores imitaban rasgos de la enfermedad y fenotipos conductuales de los donantes enfermos. Esta hipótesis se basa fundamentalmente en ensayos experimentales con modelos animales, y solo unos

pocos estudios en humanos han analizado la asociación entre las alteraciones de la microbiota intestinal y enfermedades mentales tales como la depresión, el Alzheimer, o el Parkinson.

Hasta la fecha, se han identificado diferentes vías de comunicación entre la microbiota y el cerebro como son la vía inmune, endocrina o neural. De este modo, las intervenciones con probióticos, realizadas en modelos animales de patologías que afectan al SNC, han demostrado que la microbiota podría jugar un papel en enfermedades mentales mediante la regulación de las secreciones endocrinas e inflamatorias, sintetizando componentes neuroactivos que interaccionan con el nervio vago. Muchos de estos trabajos han comparado ratones deficientes de microbiota y ratones con microbiota convencional, mostrando el papel crucial de la microbiota en el desarrollo de patologías del SNC. Sin embargo, representan una situación de “todo o nada”, y con una delicada traslación a la clínica.

Sin obviar toda la información relevante que podemos obtener de estos estudios, el siguiente paso debería centrarse en dilucidar el papel de microorganismos específicos en las diferentes patologías neuropsiquiátricas y neurodegenerativas. Por otro lado, la inflamación parece ser un rasgo crítico en la fisiopatología de este tipo de enfermedades, y por ello, un objetivo potencial para realizar intervenciones a este nivel. Es importante recalcar, que todos estos estudios se han realizado en un periodo corto de tiempo, que se circunscribe a la última década, lo que sugiere que dentro de unos años, las vagotomías o estimulaciones vagales, el tratamiento con probióticos o el TF podrán ser alternativas terapéuticas y/o coadyudantes junto con las terapias actuales en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades neurodegenerativas o neuropsiquiátricas. El estudio de la composición de la microbiota para cada situación individual se propone como parte necesaria, junto con el estudio genético de cada individuo, para el diagnóstico de la vulnerabilidad individual para desarrollar ciertas enfermedades en las que el eje microbiota-cerebro tiene un papel transcendental.

7. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutora y directora del TFG, Mónica Tramullas Fernández, por toda la ayuda y la gran implicación mostrada durante todo el trabajo.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aberg-Wistedt A, Hasselmark L, Stain- Malmgren R, Aperia B, Kjellman BF, Mathe AA: Serotonergic ‘vulnerability’ in affective disorder: a study of the tryptophan depletion test and relationships between peripheral and central serotonin indexes in citalopramresponders. *Acta Psychiatr Scand* 1998; 97: 374–380.
- Agudelo, L.Z., Femenia, T., Orhan, F., Porsmyr-Palmertz, M., Goiny, M., Martinez- Redondo, V., Correia, J.C., Izadi, M., Bhat, M., Schuppe-Koistinen, I., Pettersson, A. T., Ferreira, D.M., Krook, A., Barres, R., Zierath, J.R., Erhardt, S., Lindskog, M., Ruas, J.L.,. Skeletal muscle PGC-1alpha1 modulates kynurenine metabolism and mediates resilience to stress-induced depression. 2014.*Cell* 159, 33–45.

- Ait-Belgnaoui, A., Durand, H., Cartier, C., Chaumaz, G., Eutamene, H., Ferrier, L., Houdeau, E., Fioramonti, J., Bueno, L., Theodorou, V. Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37, 1885–1895.
- Aizawa E, Tsuji H, Asahara T, Takahashi T, Teraishi T, Yoshida S, Ota M, Koga N, Hattori K, Kunugi H. Possible association of Bifidobacterium and Lactobacillus in the gut microbiota of patients with major depressive disorder. *J Affect Disord* 2016; 202: 254-257 [PMID: 27288567 DOI: 10.1016/j.jad.2016.05.038]
- Akbari E, Asemi Z, Daneshvar Kakhaki R, Bahmani F, Kouchaki E, Tamtaji OR, Hamidi GA, Salami M. Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind and controlled trial. *Front Aging Neurosci*, 2016; 8, 256.
- Alan C. Logan, Martin Katzman. Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy. *Medical Hypotheses*, 2005; 64, 533–538
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D.R., Fernandes, G.R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., Leclerc, M., Levenez, F., Manichanh, C., Nielsen, H.B., Nielsen, T., Pons, N., Poulain, J., Qin, J., Sicheritz-Ponten, T., Tims, S., Torrents, D., Ugarte, E., Zoetendal, E.G., Wang, J., Guarner, F., Pedersen, O., de Vos, W.M., Brunak, S., Dore, J., Antolin, M., Artiguenave, F., Blottiere, H.M., Almeida, M., Brechot, C., Cara, C., Chervaux, C., Cultrone, A., Delorme, C., Denariáz, G., Dervyn, R., Foerstner, K.U., Friss, C., van de Guchte, M., Guedon, E., Haimet, F., Huber, W., van Hylckama-Vlieg, J., Jamet, A., Juste, C., Kaci, G., Knol, J., Lakhdari, O., Layec, S., Le Roux, K., Maguin, E., Merieux, A., Melo Minardi, R., M'Rini, C., Muller, J., Oozeer, R., Parkhill, J., Renault, P., Rescigno, M., Sanchez, N., Sunagawa, S., Torrejon, A., Turner, K., Vandemeulebrouck, G., Varela, E., Winogradsky, Y., Zeller, G., Weissenbach, J., Ehrlich, S.D., Bork, P. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011. 473, 174–180.
- Asti A, Gioglio L. Can a bacterial endotoxin be a key factor in the kinetics of amyloid fibril formation? *J Alzheimers Dis* 2014; 39, 169-179.
- Ascherio A, Munger KL, Lünemann JD. The initiation and prevention of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2012; 8:602—12.12.
- Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science*. 2011;331:337—41
- Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishi-kawa H, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*. 2013;500:232—6.
- Bahia PK, Pugh V, Hoyland K et al,. Neuroprotective effects of phenolic antioxidant Tbhq associate with inhibition of FoxO3a nuclear translocation and activity. *J Neurochem*. 2012. 123:182–191.

- Braak, H., De Vos, R. a.l., Bohl, J., Del Tredici, K. Gastric α -synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci. Lett.* 2006; 396, 67–72.
- Barrett, E., Ross, R.P., O'Toole, P.W., Fitzgerald, G.F., Stanton, C. Gammaaminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J. Appl. Microbiol.* 2012; 113, 411–417
- Bazinet, R.P., Laye, S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2014;15, 771–785.
- Bercik, P., Denou, E., Collins, J., Jackson, W., Lu, J., Jury, J., Deng, Y., Blennerhassett, P., Macri, J., McCoy, K.D., Verdu, E.F., Collins, S.M. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* 2011a;141, 599–609.
- Bercik P, Park AJ, Sinclair D, Khoshdel A, Lu J, Huang X, Deng Y, Blennerhassett PA, Fahnestock M, Moine D, Berger B, Huizinga JD, Kunze W, McLean PG, Bergonzelli GE, Collins SM & Verdu EF The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterol Motil* 2011b;23, 1132–1139.
- Berer, K., Mues, M., Koutrolos, M., Rasbi, Z.A., Boziki, M., Johner, C., Wekerle, H., Krishnamoorthy, G. Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination. *Nature*, 2011;479, 538–541.
- Banati, M., Csecsei, P., Koszegi, E., Nielsen, H.H., Suto, G., Bors, L., Trauninger, A., Csepany, T., Rozsa, C., Jakab, G., Molnar, T., Berthele, A., Kalluri, S.R., Berki, T., Illes, Z. Antibody response against gastrointestinal antigens in demyelinating diseases of the central nervous system. *Eur. J. Neurol.* 2013, 20(11):1492-5.
- Beharry AW, Sandesara PB, Roberts BM, Ferreira LF, Senf SM, Judge AR. HDAC1 activates FoxO and is both sufficient and required for skeletal muscle atrophy. *J Cell Sci.* 2014;127:1441–1453.
- Bermon, S., Petriz, B., Kajeniene, A., Prestes, J., Castell, L., Franco, O.L. The microbiota: an exercise immunology perspective. *Exerc. Immunol. Rev.* 2015; 21, 70–79
- Bomfim TR, Forny-Germano L, Sathler LB, Brito-Moreira J, Houzel JC, Decker H, Silverman MA, Kazi H, Melo HM, McClean PL, Holscher C, Arnold SE, Talbot K, Klein WL, Munoz DP, Ferreira ST, De Felice FG. An anti-diabetes agent protects the mouse brain from defective insulin signaling caused by Alzheimer's disease- associated Abeta oligomers. 2012. *J Clin Invest* 122 (4):1339-53
- Bonaz B., Taylor I., Taché Y. Peripheral peptide YY induces c-fos-like immunoreactivity in the rat brain. *Neurosci. Lett.* 1993;163, 77–80.
- Borody TJ, Leis S, Campbell J, et al. Fecal microbiota transplantation (FMT) in multiple sclerosis (MS). *Am J Gastroenterol* 2011; 106:S352.
- Borody TJ, Paramsothy S, Agrawal G. Fecal microbiota transplantation: Indications, methods, evidence, and future directions. *Curr Gastroenterol Rep*, 2013; 15, 337.

- Braak, H., Rüb, U., Gai, W.P., Del Tredici, K. Idiopathic Parkinson's disease: possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *J. Neural Transm.* 2003; 110, 517–536.
- Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, Korecka A, Bakocevic N, Ng LG, Kundu P, Gulyás B, Halldin C, Hultenby K, Nilsson H, Hebert H, Volpe BT, Diamond B, Pettersson S. The gut microbiota influences blood–brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med.* 2014;6 (263).
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J & Cryan JF. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108, 16050–16055.
- Buffington SA, Di Prisco GV, Auchtung TA, Ajami NJ, Petrosino JF, Costa-Mattioli M. Microbial Reconstitution Reverses Maternal Diet-Induced Social and Synaptic Deficits in Offspring. *Cell* 2016; 165: 1762-1775
- Caballero AE (2004) Endothelial dysfunction, inflammation, and insulin resistance: A focus on subjects at risk for type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 4, 237-246.
- Calogero AE, Bagdy G, Moncada ML, D'Agata R. Effect of selective serotonin agonists on basal, corticotrophin-releasing hormone- and vasopressin-induced ACTH release in vitro from rat pituitary cells. *J Endocrinol* 1993;136: 381–387
- Calvello, R., Aresta, A., Trapani, A., Zambonin C, Cianciulli A, Salvatore R, Clodoveo ML, Corbo F, Franchini C, Panaro MA. Bovine and soybean milk bioactive compounds: Effects on inflammatory response of human intestinal Caco-2 cells. *Food Chem.* 2016;210, 276-285.
- Cani PD1, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes.* 2008 Jun;57(6):1470-81. doi: 10.2337/db07-1403.
- Cantarel, B.L.,Waubant, E., Chehoud, C., et al. Gut microbiota in multiple sclerosis: possible influence of immunomodulators. *J Investig Med* 2015;63, 729-734.
- Carlino D, De Vanna M, Tongiorgi E. Is altered BDNF biosynthesis a general feature in patients with cognitive dysfunctions? *Neuroscientist* 2013;19, 345-353.
- Cekanaviciute, E., Yoo, B.B., Runia, T.F., Debelius JW, Singh S, Nelson CA, Kanner R, Bencosme Y, Lee YK, Hauser SL, Crabtree-Hartman E, Sand IK, Gacias M, Zhu Y, Casaccia P, Cree BAC, Knight R, Mazmanian SK, Baranzini SE. Gut bacteria from multiple sclerosis patients modulate human T cells and exacerbate symptoms in mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017, Oct 3;114(40):10713-10718.
- Cenit MC, Sanz Y, Codoñer-Franch P. Influence of gut microbiota on neuropsychiatric disorders. *World J Gastroenterol* 2017; 23(30): 5486-5498
- Chaouloff F: Regulation of 5-HT receptors by corticosteroids: where do we stand? *Fundam Clin Pharmacol* 1995;9: 219–233.

- Chen, J., Chia, N., Kalari, K.R., Yao JZ, Novotna M, Paz Soldan MM, Luckey DH, Marietta EV, Jeraldo PR, Chen X, Weinshenker BG, Rodriguez M, Kantarci OH, Nelson H, Murray JA, Mangalam AK. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep* 201; 6, 28484.
- Chen SG, Stribinskis V, Rane MJ, Demuth DR, Gozal E, Roberts AM, Jagadapillai R, Liu R, Choe K, Shivakumar B, Son F, Jin S, Kerber R, Adame A, Masliah E, Friedland RP. Exposure to the functional bacterial amyloid protein curli enhances alpha synuclein aggregation in aged Fischer 344 rats and *Caenorhabditis elegans*. *Sci Rep*, 2016;6, 34477
- Chewning JH, Weaver CT. Development and survival of Th17cells within the intestines: The influence of microbiome- and diet-derived signals. *J Immunol*. 2014;193:4769—77.
- Chini B, Leonzino M, Braida D, Sala M. Learning about oxytocin: pharmacologic and behavioral issues. *Biol Psychiatry* 2014;76: 360-366
- Christensen J, Grønborg TK, Sørensen MJ, Schendel D, Parner ET, Pedersen LH, Vestergaard M. Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA* 2013; 309: 1696-1703.
- Chitralla, K.N., Guan, H., Singh, N.P., Busbee B, Gandy A, Mehrpouya-Bahrami P, Ganewatta MS, Tang C, Chatterjee S, Nagarkatti P, Nagarkatti M. CD44 deletion leading to attenuation of experimental autoimmune encephalomyelitis results from alterations in gut microbiome in mice. *Eur J Immunol*, 2017, Jul;47(7):1188-1199.
- Cohen E, Bieschke J, Perciavalle RM et al., Opposing activities protect against age onset proteotoxicity. *Science*, 2006; 313:1604—1610.
- Chung H, Pamp SJ, Hill JA, Surana NK, Edelman SM, Troy EB, Reading NC, Villablanca EJ, Wang S, Mora JR, Umesaki Y, Mathis D, Benoist C, Rellman DA, Kasper DL.. Gut immune maturation depends on colonization with a host-specific microbiota. *Cell*. 2012;149:1578—93.
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R.D., Shanahan, F., Dinan, T.G., Cryan, J.F. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol. Psychiatry* 2013;18, 666—673.
- Clarke TB, Davis KM, Lysenko ES, Zhou AY, Yu Y, Wei-ser JN. Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nat Med*. 2010;16:228—31.
- Corridoni, D., Pastorelli, L., Mattioli, B., Locovei, S., Ishikawa, D., Arseneau, K.O., Chieppa, M., Cominelli, F., Pizarro, T.T. Probiotic bacteria regulate intestinal epithelial permeability in experimental ileitis by a TNF-dependent mechanism. *PloS One*, 2012; 7, e42067.
- Cosorich, I., Dalla-Costa, G., Sorini, C., et al. High frequency of intestinal TH17 cells correlates with microbiota alterations and disease activity in multiple sclerosis. *Sci Adv*, 2017; 3, e1700492.
- Cryan, J.F., Dinan, T.G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat. Rev. Neurosci*. 2012; 13, 701—712.
- Delaere F, Duchampt A, Mounien L, Pascal Seyer, Céline Duraffourd, Carine Zitoun, Bernard Thorens, Gilles Mithieux. The role of sodium-coupled glucose co transporter 3 in the satiety effect of portal glucose sensing. *Mol Metab* 2012; 2:47—53.

- De Paula, M.L., Rodrigues, D.H., Teixeira, H.C., et al. Genistein down-modulates pro-inflammatory cytokines and reverses clinical signs of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Int Immunopharmacol*, 2008; 8, 1291-1297.
- Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Bienenstock, J., Dinan, T.G. The probiotic *Bifidobacterium infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J. Psychiatr. Res.* 2008; 43, 164.
- Desbonnet L, Clarke G, Shanahan F, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota is essential for social development in the mouse. *Mol Psychiatry* 2014; 19: 146-148 [PMID: 23689536 DOI: 10.1038/mp.2013.65].
- Desbonnet L, Clarke G, Traplin A, O'Sullivan O, Crispie F, Moloney RD, Cotter PD, Dinan TG, Cryan JF. Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: Implications for brain and behaviour. *Brain Behav Immun* 2015; 48: 165-173 [PMID: 25866195 DOI: 10.1016/j.bbi.2015.04.004]
- de Theije CG, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndhoven T, Lambert J, Knol J, Garssen J, Kraneveld AD, Oozeer R. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun* 2014; 37: 197-206 [PMID: 24333160 DOI: 10.1016/j.bbi.2013.12.005]
- De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Goncalves D, Vinera J, Zitoun C, Duchamp A, Bäckhed F, Mithieux G. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell*, 2014; 156:84–96.
- Diaz Heijtz, R., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Bjorkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M.L., Forssberg, H., Pettersson, S. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2011;108, 3047–3052.
- Dinan TG, Cryan JF. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? *Neurogastroenterol Motil* 2013;25: 713-719.
- Distrutti E, O'Reilly JA, McDonald C, Cipriani S, Renga B, Lynch MA, Fiorucci S. Modulation of intestinal microbiota by the probiotic VSL#3 resets brain gene expression and ameliorates the age-related deficit in LTP. *PLoS One* 2014; 9: e106503.
- Ebers, G.C., Bulman, D.E., Sadovnick, A.D., Donald W. Paty, M.D., Sharon Warren, Ph.D., Walter Hader, M.D., T. Jock Murray, M.D., T. Peter Seland, M.D., Pierre Duquette, M.D., Trevor Grey, M.D., Robert Nelson, M.D., Michael Nicolle, M.D., Donald Brunet, M.D. A population-based study of multiple sclerosis in twins. *N Engl J Med* 1986;315, 1638-1642.
- El Aidy S, Dinan TG & Cryan JF . Gut microbiota: The conductor in the orchestra of immune-neuroendocrine communication. *Clin Ther.* 2015;37, 954–967.
- Erdman SE, Poutahidis T. Microbes and Oxytocin: Benefits for Host Physiology and Behavior. *Int Rev Neurobiol* 2016; 131: 91-126.
- Endres K, Schäfer KH. Influence of Commensal Microbiota on the Enteric Nervous System and Its Role in Neurodegenerative Diseases. *J Innate Immun.* 2018. May 9:1-9.
- Erny D, Hrabě de Angelis AL, Jaitin D, Wieghofer P, Staszewski O, David E, Keren-Shaul H, Muhlaker T, Jakobshagen K, Buch T, Schwierzeck V, Utermöhlen O, Chun E, Garrett WS,

- McCoy KD, Diefenbach A, Staeheli P, Stecher B, Amit I, Prinz M. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience* 2015 Jul;18(7):965-77.
- Eslami, S., Hadjati, J., Motevaseli, E., et al. *Lactobacillus crispatus* strain SJ-3C-US induces human dendritic cells (DCs) maturation and confers an anti-inflammatory phenotype to DCs. *APMIS*, 2016; 124, 697-710.
- Everard A, Cani PD. Diabetes, obesity and gut microbiota. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2013; 27: 73-83.
- Ezendam, J., de Klerk, A., Gremmer, E.R., van Loveren, H. Effects of *Bifidobacterium animalis* administered during lactation on allergic and autoimmune responses in rodents. *Clin. Exp. Immunol.* 2008; 154, 424–431.
- Festi D, Schiumerini R, Eusebi LH, Marasco G, Taddia M, Colecchia A. Gut microbiota and metabolic syndrome. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 16079-16094.
- Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD, Youn E, Summanen PH, Granpeesheh D, Dixon D, Liu M, Molitoris DR, Green JA 3rd. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* 2010; 16: 444-453.
- Forsyth, C.B., Shannon, K.M., Kordower, J.H., Voigt, R.M., Shaikh, M., Jaglin, J. a., Estes, J.D., Dodiya, H.B., Keshavarzian, A. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *PLoS One*, 2011; 6.
- Foster, J.A., McVey Neufeld, K.A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci.* 2013; 36, 305–312.
- Friedland RP. Mechanisms of molecular mimicry involving the microbiota in neurodegeneration. *J Alzheimers Dis* 2015; 45, 349-362.
- Galland L. The gut microbiome and the brain. *J Med Food* 2014 17, 1261–1272.
- Gareau, M.G., Jury, J., MacQueen, G., Sherman, P.M., Perdue, M.H. Probiotic treatment of rat pups normalises corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation. *Gut* 2007; 56, 1522–1528.
- Garza AA, Ha TG, Garcia C, Chen MJ, Russo-Neustadt AA. Exercise, antidepressant treatment, and BDNF mRNA expression in the aging brain. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2004; 77 209–220.
- Gasbarrini, A., Lauritano, E.C., Gabrielli, M., Scarpellini, E., Lupascu, A., Ojetti, V., Gasbarrini, G. Small intestinal bacterial overgrowth: diagnosis and treatment. *Dig. Dis. Basel Switz.* 2007; 25, 237–240.
- Geuking MB, Cahenzli J, Lawson MAE, Ng DCK, SlackE, Hapfelmeier S, McCoy KD, Macpherson AJ. Intestinal bacterial colonization induces mutualistic regulatory T cell responses. *Immunity.* 2011;34:794—806.
- Goehler, L.E., Park, S.M., Opitz, N., Lyte, M., Gaykema, R.P. *Campylobacter jejuni* infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. *Brain Behav. Immun.* 2008; 22, 354–366.

- Gold, A., Turkalp, Z.T., Munoz, D.G. Enteric alpha-synuclein expression is increased in Parkinson's disease but not Alzheimer's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 2013; 28, 237–240.
- Greene JG. Causes and consequences of degeneration of the dorsal motor nucleus of the vagus nerve in Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal* 2014; 21:649–667.
- Grenham S, Clarke G, Cryan JF & Dinan TG. Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front Physiol* 2011; 2, 94.
- Grosso G, Pajak A, Marventano S, Castellano S, Galvano F, Bucolo C, Drago F, Caraci F. Role of omega-3 fatty acids in the treatment of depressive disorders: a comprehensive meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS One* 2014; 9: e96905.
- Haghikia, A., Jorg, S., Duscha, A., Berg J, Manzel A, Waschbisch A, Hammer A, Lee DH, May C, Wilck N, Balogh A, Ostermann AI, Schebb NH, Akkad DA, Grohme DA, Kleinewietfeld M, Kempa S, Thöne J, Demir S, Müller DN, Gold R, Linker RA. Dietary Fatty Acids Directly Impact Central Nervous System Autoimmunity via the Small Intestine. *Immunity* 2015; 43, 817-829.
- Hall JA, Bouladoux N, Sun CM, Wohlfert EA, Blank RB, Zhu Q, Grigg ME, Berzofsky JA, Belkaid Y. Commensal DNA limits regulatory T cell conversion and is a natural adjuvant of intestinal immune responses. *Immunity*.2008;29:637—49.56.
- Harach T, Marungruang N, Dutilleul N, Cheatham V, McCoy KD, Neher JJ, Jucker M, Fåk, F, Lasser T, Bolmont T. Reduction of Alzheimer's disease beta- 1167 amyloid pathology in the absence of gut microbiota. 2015. arXiv:1509.02273v2 [q-bio. MN].
- Haus-Wegrynjak B, Vraniak PD, Wenk GL. LPS-induced neuroinflammatory effects do not recover with time. *Neuroreport* 2000; 11, 1759-1763.
- Hawkes, C.H., Del Tredici, K., Braak, H. Parkinson's disease: the dual hit theory revisited. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009; 1170, 615–622.
- Higuchi, T., Hayashi, H., Abe, K. Exchange of glutamate and gammaaminobutyrate in a *Lactobacillus* strain. *J. Bacteriol.* 1997; 179, 3362–3364.
- Hollenbach, J.A. & Oksenberg, J.R. The immunogenetics of multiple sclerosis: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015; 64, 13-25.
- Houdeau, E., Fioramonti, J., Bueno, L., Theodorou, V. Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 2012; 37, 1885–1895.
- Hufnagel DA, Tukel C, Chapman MR. Disease to dirt: The biology of microbial amyloids. *PLoS Pathog.* 2013; 9, e1003740.
- Ismail AS, Hooper LV. Epithelial cells and their neighbors. IV. Bacterial contributions to intestinal epithelial barrier integrity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;289:G779—84.
- Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T, Karaoz U, Wei D, Goldfarb KC, Santee CA, Lynch SV, Tanoue T, Imaoka A, Itoh K, Takeda K, Umesaki Y, Honda K, Littman DR. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell.* 2009;139:485—98

- Jaeger LB, Dohgu S, Sultana R, Lynch JL, Owen JB, Erickson MA, Shah GN, Price TO, Fleegal-Demotta MA, Butterfield DA, Banks WA. Lipopolysaccharide alters the blood brain barrier transport of amyloid beta protein: A mechanism for inflammation in the progression of Alzheimer's disease. *Brain Behav Immun* 2009; 23, 507-517.
- Jangi, S., Gandhi, R., Cox, L.M., , Li N, von Glehn F, Yan R, Patel B, Mazzola MA, Liu S, Glanz BL, Cook S, Tankou S, Stuart F, Melo K, Nejad P, Smith K, Topçuoğlu BD, Holden J, Kivisäkk P, Chitnis T, De Jager PL, Quintana FJ, Gerber GK, Bry L, Weiner HL. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat Commun*, 2016; 7, 12015
- Jiang H, Ling Z, Zhang Y, Mao H, Ma Z, Yin Y, Wang W, Tang W, Tan Z, Shi J, Li L, Ruan B. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. *Brain Behav Immun* 2015; 48: 186-194.
- Jiang C, Li G, Huang P, Liu Z, Zhao B. The Gut Microbiota and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2017vol. 58, no. 1, pp. 1-15.
- Jimenez, E., Marin, M.L., Martin, R., Odriozola, J.M., Olivares, M., Xaus, J., Fernandez, L., Rodriguez, J.M. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res. Microbiol.* 2008 159, 187–193.
- Kahn MS, Kranjac D, Alonzo CA, Haase JH, Cedillos RO, McLinden KA, Boehm GW, Chumley MJ. Prolonged elevation in hippocampal Aβ and cognitive deficits following repeated endotoxin exposure in the mouse. *Behav Brain Res*, 2012; 229, 176-184.
- Kamada N, Núñez G. Regulation of the immune system by the resident intestinal bacteria. *Gastroenterology*.2014;146:1477—88.63.
- Kamada N, Seo SU, Chen GY & Nunez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*; 2013; 13, 321–335.
- Kelly JR, Borre Y, O' Brien C, Patterson E, El Aidy S, Deane J, Kennedy PJ, Beers S, Scott K, Moloney G, Hoban AE, Scott L, Fitzgerald P, Ross P, Stanton C, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG. Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *J Psychiatr Res* 2016; 82: 109-118.
- Kelly JR, Kennedy PJ, Cryan JF, Dinan TG, Clarke G & Hyland NP. Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Front Cell Neurosci* 2015;9, 392.
- Keshavarzian, A., Green, S.J., Engen, P.A., Voigt, R.M., Naqib, A., Forsyth, C.B., Mutlu, ÇE., Shannon, K.M. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 2015, 30, 1351–1360.
- Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Inhibition of interferon gamma signaling by the short chain fatty acid butyrate. *Mol Cancer Res*. 2003;1:855—62.
- Klingelhoefer, L., Reichmann, H. Pathogenesis of Parkinson disease-the gut-brain axis and environmental factors. *Nat. Rev. Neurol.* 2015; 11, 625–636.
- Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P & Backhed F. From dietary fibre to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, 2016; 165, 1332–1345.

- Kohler CA, Maes M, Slyepchenko A, Berk M, Solmi M, Lanctot KL, Carvalho AF. The gut-brain axis, including the microbiome, leaky gut and bacterial translocation: Mechanisms and pathophysiological role in Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des*, 2016; 22, 6152-6166.
- Konstantinopoulos, P.A., Kominea, A., VANDOROS, G., Sykiotis G.P, Andricopoulos P, Varakis I, Sotiropoulou-Bonikou G, Papavassiliou A.G. Oestrogen receptor beta (ERbeta) is abundantly expressed in normal colonic mucosa, but declines in colon adenocarcinoma paralleling the tumour's dedifferentiation. *Eur J Cancer*, 2003;39, 1251-1258.
- Korecka, A., Dona, A., Lahiri, S., Tett AJ, Al-Asmakh M, Braniste V, D'Arienzo R, Abbaspour A, Reichardt N, Fujii-Kuriyama Y, Rafter J, Narbad A, Holmes E, Nicholson J, Arulampalam V, Pettersson S. Bidirectional communication between the Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) and the microbiome tunes host metabolism. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2016; 2, 16014.
- Koren, O., Knights, D., Gonzalez, A., Waldron, L., Segata, N., Knight, R., Huttenhower, C., Ley, R.E. A guide to enterotypes across the human body: meta-analysis of microbial community structures in human microbiome datasets. *PLoS Comput. Biol.* 2013; 9, e1002863.
- Kumar DK, Choi SH, Washicosky KJ, Eimer WA, Tucker S, Ghofrani J, Lefkowitz A, McColl G, Goldstein LE, Tanzi RE, Moir RD. Amyloid- β peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer's disease. *Sci Transl Med* 2016. 8(340):340ra72
- Kuwahara, A. Contributions of colonic short-chain fatty acid receptors in energy homeostasis. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 2014; 5, 144.
- Kwon, H.K., Kim, G.C., Kim, Y., Hwang, W., Jash, A., Sahoo, A., Kim, J.E., Nam, J.H., Im, S.H., Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by probiotic mixture is mediated by a shift in T helper cell immune response. *Clin. Immunol. (Orlando, FL)*, 2013; 146, 217–227.
- Lakhan SE, Caro M, Hadzimichalis N. NMDA receptor activity in neuropsychiatric disorders. *Front Psychiatry*, 2013; 4, 52.
- Lamas, B., Richard, M.L., Leducq, V., Pham HP, Michel ML, Da Costa G, Bridonneau C, Jegou S, Hoffmann TW, Natividad JM, Brot L, Taleb S, Couturier-Maillard A, Nion-Larmurier I, Merabtene F, Seksik P, Bourrier A, Cosnes J, Ryffel B, Beaugerie L, Launay JM, Langella P, Xavier RJ, Sokol H. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands. *Nat Med*, 2016; 22, 598-605.
- Lee, Y.K., Menezes, J.S., Umesaki, Y., Mazmanian, S.K. Proinflammatory T-cell responses to gut microbiota promote experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108 (Suppl 1), 2011;4615–4622.
- Le Poul E, Loison C, Struyf S, Springael J-Y, Lannoy V, Decobecq ME, Brezillon S, Dupriez V, Vassart G, Van Damme J, Parmentier M, Detheux M. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *J Biol Chem.* 2003;278:25481—9

- Lacassagne O, Kessler JP. Cellular and subcellular distribution of the amino-3 hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate receptor subunit GluR2 in the rat dorsal vagal complex. *Neuroscience*, 2000; 99:557–563
- Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., Duan, Y., Jin, F., Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience*, 2015; 3;310:561-77.
- Lopetuso, L.R., Scaldaferri, F., Petito, V. & Gasbarrini, A. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis. *Gut Pathog*; 2013, 5, 23.
- Luchsinger JA, Tang MX, Shea S, Mayeux R. Hyperinsulinemia and risk of Alzheimer disease. *Neurology*. 2004 Oct 12;63(7):1187-92.
- LukiwWJ. *Bacteroides fragilis* Lipopolysaccharide and Inflammatory Signaling in Alzheimer's Disease. *Front Microbiol*, 2016; 7, 1544.
- Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 2004; 84: 87-136.
- Lyte, M., Li, W., Opitz, N., Gaykema, R.P., Goehler, L.E. Induction of anxiety like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia *Citrobacter rodentium*. *Physiol. Behav.* 2006; 89, 350–357.
- Lyte M. Microbial endocrinology: Host-microbiota neuroendocrine interactions influencing brain and behavior. *Gut Microbes*, 2014; 5, 381–389.
- MacFabe D.F Cain N. E., Boon F., Ossenkopp K. P., Cain D. P., *Behav. Brain Res.* 2011; 217, 47.
- Macia, L., Tan, J., Vieira, A.T., Leach K, Stanley D, Luong S, Maruya M, Ian McKenzie C, Hijikata A, Wong C, Binge L, Thorburn AN, Chevalier N, Ang C, Marino E, Robert R, Offermanns S, Teixeira MM, Moore RJ, Flavell RA, Fagarasan S, Mackay CR. Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nat Commun* 2015; 6, 6734.
- Maes, M., Kubera, M., Leunis, J.C. The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro Endocrinol.* 2008; Lett. 29, 117–124.
- Mancuso C, Santangelo R. Alzheimer's disease and gut microbiota modifications: The long way between preclinical studies and clinical evidence. *Pharmacol Res.* 2018 Mar;129:329-336.
- Mangalam, A., Shahi, S.K., Luckey, D., et al. Human Gut-derived Commensal Bacteria Suppress Central Nervous System Inflammatory and Demyelinating Disease. *Cell Rep*, 2017; 20, 1269-1277 .
- Mayer EA . Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat Rev Neurosci*, 2011;12, 453–466.
- Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immuno-modulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell.* 2005;122:107—18.
- Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease. *Nature.*2008;453:620—5.

- Meijer OC, de Kloet ER: Corticosterone and serotonergic neurotransmission in the hippocampus: functional implications of central corticosteroid receptor diversity. *Crit Rev Neurobiol* 1998; 12: 1–20.
- Menzel T, Lührs H, Zirlik S, Schaubert J, Kudlich T, Gerke T, Gostner A, Neumann M, Melcher R, Scheppach W. Butyrate inhibits leukocyte adhesion to endothelial cells via modulation of VCAM-1. *Inflamm Bowel Dis*. 2004;10:122–8.
- Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdi, A., Bisson, J.F., Rougeot, C., Pichelin, M., Cazaubiel, M., Cazaubiel, J.M. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br. J. Nutr.* 2011a; 105, 755–764.
- Messaoudi, M., Violle, N., Bisson, J.F., Desor, D., Javelot, H., Rougeot, C. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut Microbes*; 2011b. 2, 256–261.
- Minter MR, Zhang C, Leone V, Ringus DL, Zhang X, Oyler-Castrillo P, Musch MW, Liao F, Ward JF, Holtzman DM, Chang EB, Tanzi RE, Sisodia SS. Antibiotic-induced perturbations in gut microbial diversity influences neuro-inflammation and amyloidosis in a murine model of Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2016 Jul 21;6:30028.
- Miyake, S., Kim, S., Suda, W., et al. Oshima K, Nakamura M, Matsuoka T, Chihara N, Tomita A, Sato W, Kim SW, Morita H, Hattori M, Yamamura T. Dysbiosis in the Gut Microbiota of Patients with Multiple Sclerosis, with a Striking Depletion of Species Belonging to Clostridia XIVa and IV Clusters. *PLoS One*, 2015; 10, e0137429.
- Mizuno, M., Noto, D., Kaga, N., Chiba, A. & Miyake, S. The dual role of short fatty acid chains in the pathogenesis of autoimmune disease models. *PLoS One*, 2017;12, e0173032.
- Morrison, D.J. & Preston, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 2016;7, 189–200
- Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil* 2011;23, 255–264.
- Nicholson J.K., Holmes E., Kinross J., Burcelin R., Gibson G., Jia W., Pettersson S., Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*; 2012;336, 1262–1267.
- Ochoa-Repáraz J, Kasper LH. The Second Brain: Is the Gut Microbiota a Link Between Obesity and Central Nervous System Disorders? *Curr Obes Rep* 2016; 5: 51–64.
- Ochoa-Reparaz, J., Mielcarz, D.W., Ditrio, L.E., Burroughs, A.R., Begum-Haque, S., Dasgupta, S., Kasper, D.L., Kasper, L.H. Central nervous system demyelinating disease protection by the human commensal *Bacteroides fragilis* depends on polysaccharide A expression. *J. Immunol.* (Baltimore, MD: 1950), 2010a;185, 4101–4108.
- Ochoa-Reparaz, J., Mielcarz, D.W., Ditrio, L.E., Burroughs, A.R., Foureau, D.M., Haque- Begum, S., Kasper, L.H. Role of gut commensal microflora in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol.* (Baltimore, MD: 1950), 2009;183, 6041–6050.

- Ochoa-Reparaz, J., Mielcarz, D.W., Haque-Begum, S., Kasper, L.H. Induction of a regulatory B cell population in experimental allergic encephalomyelitis by alteration of the gut commensal microflora. *Gut Microbes* 2010b.1, 103–108.
- Ochoa-Reparaz, J., Mielcarz, D.W., Wang, Y., Begum-Haque, S., Dasgupta, S., Kasper, D.L., Kasper, L.H. A polysaccharide from the human commensal *Bacteroides fragilis* protects against CNS demyelinating disease. *Mucosal Immunol.* 2010c; 3, 487–495.
- Ochoa-Reparaz, J., Riccardi, C., Rynda, A., Jun, S., Callis, G., Pascual, D.W. Regulatory T cell vaccination without autoantigen protects against experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Immunol. (Baltimore, MD: 1950)*, 2007; 178, 1791–1799.
- Ochoa-Reparaz, J., Rynda, A., Ascon, M.A., Yang, X., Kochetkova, I., Riccardi, C., Callis, G., Trunkle, T., Pascual, D.W. IL-13 production by regulatory T cells protects against experimental autoimmune encephalomyelitis independently of autoantigen. *J. Immunol. (Baltimore, MD: 1950)*, 2008; 181, 954–968.
- Ogbonnaya ES, Clarke G, Shanahan F, Dinan TG, Cryan JF, O’Leary OF. Adult hippocampal neurogenesis is regulated by the microbiome. *Biol Psychiatry*, 2015; 78.
- O’Hara, A.M., Shanahan, F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*, 2006; 7, 688–693.
- O’Keane V, Dinan TG: Prolactin and cortisol responses to d-fenfluramine in major depression: evidence for diminished responsivity of central serotonergic function. *Am J Psychiatry* 1991; 148: 1009–1015.
- O’Mahony SM, Clarke G, Borre YE, Dinan TG & Cryan JF. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behav Brain Res*, 2015; 277, 32–48.
- Paul B, Barnes S, Demark-Wahnefried W, Morrow C, Salvador C, Skibola C & Tollefsbol TO. Influences of diet and the gut microbiome on epigenetic modulation in cancer and other diseases. *Clin Epigenetics*, 2015;7, 112.
- Pellissier S., Dantzer C., Canini F., Mathieu N., Bonaz B. Psychological adjustment and autonomic disturbances in inflammatory bowel diseases and irritable bowel syndrome. *Psychoneuroendocrinology*, 2010;35, 653–662.
- Pellissier S., Dantzer C., Mondillon L., Trocme C., Gauchez A. S., Ducros V., et al. Relationship between vagal tone, cortisol, TNF-alpha, epinephrine and negative affects in Crohn's disease and irritable bowel syndrome. *PLoS One*. 2014 Sep 10;9(9):e105328. doi: 10.1371/journal.pone.0105328.
- Piccio, L., Stark, J.L., Cross, A.H. Chronic calorie restriction attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84, 940–948.
- Pino E, Amamoto R, Zheng L et al., FOXO3 determines the accumulation of alpha-synuclein and controls the fate of dopaminergic neurons in the substantia nigra. *Hum Mol Genet*, 2014;23:1435–1452.
- Prince Martin, Andres Wilmo, Maelen Guerchet, Gemma-Clire Ali, Yu- Tzu Wu, Matthew Prina. Informe Mundial sobre el Alzheimer Las consecuencias de la demencia análisis de prevalencia, incidencia, coste y tendencias. *Alzheimer’s Disease International (ADI) 2015*
- Prusiner SB. Cell biology. A unifying role for prions in neurodegenerative diseases. *Science*, 2012; 336, 1511-1513.

- Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 2010;362, 329-344.
- Qian, Y, Yang X, Xu S, Wu C, Song Y, Qin N, Chen S, Xiao Q. Alteration of the fecal microbiota in Chinese patients with Parkinson's disease. *Brain Behav Immun*. 2018 May;70:194-202. doi: 10.1016/j.bbi.2018.02.016.
- Reigstad, C.S., Salmonson, C.E., Rainey 3rd, J.F., Szurszewski, J.H., Linden, D.R., Sonnenburg, J.L., Farrugia, G., Kashyap, P.C. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *FASEB J*. 2015;29, 1395–1403.
- Rekha, C.R. & Vijayalakshmi, G. Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. *J Appl Microbiol*, 2010;109, 1198-1208.
- Rezende, R.M., Oliveira, R.P., Medeiros, S.R., Gomes-Santos, A.C., Alves, A.C., Loli, F.G., Guimaraes, M.A., Amaral, S.S., da Cunha, A.P., Weiner, H.L., Azevedo, V., Miyoshi, A., Faria, A.M. Hsp65-producing *Lactococcus lactis* prevents experimental autoimmune encephalomyelitis in mice by inducing CD4⁺LAP⁺ regulatory T cells. *J. Autoimmun*. 2013; 40, 45–57.
- Rietjens, I., Lousse, J. & Beekmann, K. The potential health effects of dietary phytoestrogens. *Br J Pharmacol*, 2017;174, 1263-1280.
- Rios-Covian, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., et al. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front Microbiol* 7, 2016; 185.
- Rooks, M.G. & Garrett, W.S. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol*, 2016; 16, 341-352.
- Rothhammer, V., Maccanfroni, ID, Bunse, L., Takenaka MC, Kenison JE, Mayo L, Chao CC, Patel B1, Yan R, Blain M, Alvarez JI, Kébir H, Anandasabapathy N, Izquierdo G, Jung S, Obholzer N, Pochet N, Clish CB, Prinz M, Prat A, Antel J, Quintana FJ.. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med*, 2016; 22, 586-597.
- Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3⁺ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:12204—9.
- Round, J.L., Mazmanian, S.K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat. Rev. Immunol*. 2009; 9, 313–323.
- Ruan X, Shi H, Xia G, Xiao Y, Dong J, Ming F, Wang S. Encapsulated *Bifidobacteria* reduced bacterial translocation in rats following hemorrhagic shock and resuscitation. *Nutrition*, 2007; 23 754 –761
- Russo-Neustadt A.A., Beard R.C, Huang Y.M, Cotman C.W. Physical activity and antidepressant treatment potentiate the expression of specific brain-derived neurotrophic factor transcripts in the rat hippocampus. *Neuroscience* 2000 vol. 101, no. 2, pp. 305-312.
- Säemann MD, Böhmig GA, Osterreicher CH, Burtscher H, Paro-lini O, Diakos C, et al. Anti-inflammatory effects of sodiumbutyrate on human monocytes: Potent inhibition of IL-12 and up-regulation of IL-10 production. *FASEB J*. 2000;14: 2380—2.

- Sandler, R.H., Finegold, S.M., Bolte, E.R., Buchanan, C.P., Maxwell, A.P., Vaisanen, M.L., Nelson, M.N., Wexler, H.M. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J. Child Neurol.* 2000;15, 429–435.
- Sánchez-Ferro, Á., Rábano, A., Catalán, M.J., Rodríguez-Valcárcel, F.C., Fernández Díez, S., Herreros-Rodríguez, J., García-Cobos, E., Álvarez-Santullano, M.M., López Manzanares, L., Mosqueira, A.J., Vela Desojo, L., López-Lozano, J.J., López-Valdés, E., Sánchez-Sánchez, R., Molina-Arjona, J.A. In vivo gastric detection of α synuclein inclusions in Parkinson's disease. *Mov. Disord. Off. J. Mov. Disord. Soc.* 2015; 30, 517–524.
- Scaldaferri F, Pizzoferrato M, Gerardi V, Lopetuso L & Gasbarrini A. The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *J Clin Gastroenterol*, 2012; 46, Suppl., S12–17.
- Shannon, K.M., Keshavarzian, A., Dodiya, H.B., Jakate, S., Kordower, J.H. Is alpha-synuclein in the colon a biomarker for premotor Parkinson's Disease? Evidence from 3 cases. *Mov. Disord.* 2012a; 27, 716–719.
- Schrocksadel, K., Wirleitner, B., Winkler, C., Fuchs, D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin. Chim. Acta*, 2006; 364, 82–90.
- Schogor, A.L., Huws, S.A., Santos, G.T., et al. Ruminant Prevotella spp. may play an important role in the conversion of plant lignans into human health beneficial antioxidants. *PLoS One*, 2014; 9, e87949
- Schwartz K, Boles BR. Microbial amyloids functions and interactions within the host. *Curr Opin Microbiol*, 2013;16, 93-99.
- Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C., Finlay, B.B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* 2010; 90, 859–904.
- Shahi, S.K., Freedman, S.N. & Mangalam, A.K. Gut microbiome in multiple sclerosis: The players involved and the roles they play. *Gut Microbes*, 2017; 1-9.
- Sirotkin, A.V. & Harrath, A.H. Phytoestrogens and their effects. *Eur J Pharmacol*, 2014; 741, 230-236.
- Sommer F & Backhed F. Know your neighbor: Microbiota and host epithelial cells interact locally to control intestinal function and physiology. *Bioessays*, 2016;38, 455 464.
- Song, C., Lin, A., Bonaccorso, S., Heide, C., Verkerk, R., Kenis, G., Bosmans, E., Scharpe, S., Whelan, A., Cosyns, P., de Jongh, R., Maes, M. The inflammatory response system and the availability of plasma tryptophan in patients with primary sleep disorders and major depression. *J. Affect. Disord.* 1998;49, 211–219.
- Sonnenberg GF & Artis D. Innate lymphoid cell interactions with microbiota: implications for intestinal health and disease. *Immunity*, 2012;37, 601–610.
- Stecher B, Chaffron S, Käppeli R, Hapfelmeier S, FriedrichS, Weber TC, et al. Like will to like: Abundances of closelyrelated species can predict susceptibility to intestinal colonization by pathogenic and commensal bacteria. *PLoS Pathog.*2010;6:e1000711.53.
- Stilling RM, Dinan TG & Cryan JF. Microbial genes, brain & behavior epigenetic regulation of the gut- brain axis. *Genes Brain Behav*, 2014;13, 69–86.

- Stilling RM, van deWouw M, Clarke G, Stanton C, Dinan TG & Cryan JF. The neuropharmacology of butyrate: The bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? *Neurochem Int*, 2016;99, 110–132.
- Stinissen, P., Raus, J. & Zhang, J. Autoimmune pathogenesis of multiple sclerosis: role of autoreactive T lymphocytes and new immunotherapeutic strategies. *Crit Rev Immunol*, 1997;17, 33-75.
- Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu XN, Kubo C, Koga Y. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol*, 2004;558, 263-275.
- Sun, M.F., Zhu, Y.L., Zhou, Z.L., Jia, X.B., Xu, Y.D., Yang, Q., Cui, C., Shen, Y.Q., 2018. Neuroprotective effects of fecal microbiota transplantation on MPTP-induced Parkinson's disease mice: Gut microbiota, glial reaction and TLR4/TNF-alpha signaling pathway. *Brain Behav Immun*, 2018; doi: 10.1016/j.bbi.2018.02.005.
- Takata, K., Kinoshita, M., Okuno, T., Moriya, M., Kohda, T., Honorat, J.A., Sugimoto, T., Kumanogoh, A., Kayama, H., Takeda, K., Sakoda, S., Nakatsuji, Y. The lactic acid bacterium *Pediococcus acidilactici* suppresses autoimmune encephalomyelitis by inducing IL-10-producing regulatory T cells. *PLoS One*, 2011;6, e27644.
- Thomas RH, Meeking MM, Mephram JR, Tichenoff L, Possmayer F, Liu S, MacFabe DF. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 153 [PMID: 22747852].
- Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, Ostatnikova D. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol Behav* 2015; 138: 179-187.
- Tremlett, H., Fadrosch, D.W., Faruqi, A.A., et al. Gut microbiota in early pediatric multiple sclerosis: a case-control study. *Eur J Neurol*, 2016; 23, 1308-1321.
- Valles, Y., Gosalbes, M.J., de Vries, L.E., Abellan, J.J., Francino, M.P. Metagenomics and development of the gut microbiota in infants. *Clin. Microbiol.* 2012;18 (Suppl. 4), 21–26.
- Vijay N, Morris ME. Role of monocarboxylate transporters in drug delivery to the brain. *Curr Pharm Des*, 2014;20:1487–1498
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojarvi, J., Kootte, R.S., Bartelsman, J.F., Dallinga-Thie, G.M., Ackermans, M.T., Serlie, M.J., Oozeer, R., Derrien, M., Druesne, A., Van Hylckama Vlieg, J.E., Bloks, V.W., Groen, A.K., Heilig, H.G., Zoetendal, E.G., Stroes, E.S., de Vos, W.M., Hoekstra, J.B., Nieuwdorp, M. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 2012; 143.
- Wall R, Cryan JF, Ross RP, Fitzgerald GF, Dinan TG & Stanton C. Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics. *Adv Exp Med Biol*, 2014; 817, 221–239.
- Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2096-2102.

- Wang T, Hu X, Liang S, Li W, Wu X, Wang L, Jin F. Lactobacillus fermentum NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats. *Benef Microbes*. 2015; 6, 707-717.
- Wang, X., Wang, B.R., Zhang, X.J., Xu, Z., Ding, Y.Q., Ju, G. Evidences for vagus nerve in maintenance of immune balance and transmission of immune information from gut to brain in STM-infected rats. *World J. Gastroenterol*. 2002;8,540–545.
- Wang Z, Xiao G, Yao Y, Guo S, Lu K, Sheng Z. The role of bifidobacteria in gut barrier function after thermal injury in rats. *J Trauma*, 2006; 61, 650-657.
- Wei, Z., Wang, M., Hong, M., et al., Shengpeng Diao, Aiqun Liu, Yeqing Huang, Qingyun Yu, Zhongxing Peng. Icariin exerts estrogen-like activity in ameliorating EAE via mediating estrogen receptor beta, modulating HPA function and glucocorticoid receptor expression. *Am J Transl Res*, 2016; 8, 1910-1918.
- Xu MQ, Cao HL, Wang WQ, Wang S, Cao XC, Yan F, Wang BM. Fecal microbiota transplantation broadening its application beyond intestinal disorders. *World J Gastroenterol*, 2015; 21, 102-111.
- Xu P, Das M, Reilly J, Davis RJ. JNK regulates FoxOdependent autophagy in neurons. *Genes Dev*, 2011; 25:310–322.
- Yadav, S.K., Mindur, J.E., Ito, K. & Dhib-Jalbut, S. Advances in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2015;28, 206-219.
- Yang, X., Qian, Y., Xu, S., Song, Y., Xiao, Q.,. Longitudinal Analysis of Fecal Microbiome and Pathologic Processes in a Rotenone Induced Mice Model of Parkinson's Disease. *Front. Aging Neurosci*. 2018, 9.
- Zagon, A. Does the vagus nerve mediate the sixth sense? *Trends Neurosci*. 2001;24, 671–673.
- Zhang R, Miller RG, Gascon R, Champion S, Katz J, Lancero M, Narvaez A, Honrada R, Ruvalcaba D, McGrath MS. Circulating endotoxin and systemic immune activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (sALS). *J Neuroimmunol*, 2009; 206, 121-124.
- Zhao, L., Mao, Z. & Brinton, R.D. A select combination of clinically relevant phytoestrogens enhances estrogen receptor betabinding selectivity and neuroprotective activities in vitro and in vivo. *Endocrinology*, 2009; 150, 770-783.
- Zhao, L., Mao, Z., Schneider, L.S. & Brinton, R.D. Estrogen receptor beta-selective phytoestrogenic formulation prevents physical and neurological changes in a preclinical model of human menopause. *Menopause*, 2011;18, 1131-1142.
- Zhang, L.S. & Davies, S.S. Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for newtherapeutic interventions. *Genome Med*, 2016;8, 46.
- Zhao Y, Dua P, Lukiw WJ. Microbial sources of amyloid and relevance to amyloidogenesis and Alzheimer's disease (AD). *J Alzheimers Dis Parkinsonism*, 2015;5, 177.
- ZhaoY, LukiwWJ Microbiome-generated amyloid and potential impact on amyloidogenesis in Alzheimer's disease (AD). *J Nat Sci*, 2015; 1, e138.