



Posible papel del microbioma en el eje cerebro/intestino



Ana M.ª Pascual-Leone Pascual
Coordinadora de la sesión
Mesa redonda celebrada el 15 de junio de 2017
e-mail: anamariapascualleone@gmail.com

ORDEN DEL DÍA

Presentación:

Excma. Sra. Dña. Ana María Pascual-Leone
Investigadora del CSIC y Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Ponentes:

“El hombre y los microorganismos: el eje cerebro/intestino”

Excmo. Sr. D. Rafael Sentandreu Ramón
Catedrático de Microbiología, Prof. Emérito de la Universidad de Valencia y Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

“Regulación directa de la actividad hipotalámica por la microbiota intestinal detectada mediante imagen y espectroscopia de resonancia magnética”

Excmo. Sr. D. Sebastián Cerdán García-Esteller
Profesor de Investigación del CSIC y Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Presentación

Ana María Pascual-Leone Pascual

Excmo Sr. Presidente de la Academia Nacional de Farmacia, Excmas. Señoras y Señores Académicos, Sras. y Sres.:

Por el hábito en esta Institución de divulgar cuestiones sanitarias de vanguardia científica, se ha hablado ya varias veces de microbioma.

Por primera vez, creo, habló de microbioma el Excmo. Dr. Sentandreu en abril del 2013, en la Mesa Redonda titulada “ Sinbiogénesis y bacteriomas” y, también, en su magnífico discurso con motivo de su entrada como Académico de Número. Muy recientemente, el Excmo Sr. D. César Nombela volvió a hacerlo en la clausura del curso sobre obesidad.

Por ello cabe preguntarse: **¿Por qué este tema y por qué este título?**

Porque los nuevos y recientes estudios sobre el microbioma humano como conjunto de bacterias, virus, hongos y protozoos que habitan sobre el cuerpo del hombre prometen ser pieza importante para las relaciones, muchas ya establecidas, entre el cerebro y el intestino. El microbioma fue descubierto hace más de un siglo cuando se describió ya que los animales que no lo tenían, *gnotobióticos*, se desarrollaban mal, especialmente, en su sistema inmune y en su tracto intestinal.

Las nuevas conclusiones sobre estos estudios solo se han podido realizar recientemente, cuando se conoce la estructura del material genético, y cuando se han habilitado también las técnicas necesarias para el estudio de estos microorganismos en su nicho ecológico, y no en cultivos *in vitro*.

Las conclusiones sobre el microbioma recientes parecen abrir posibilidades terapéuticas en diversas y significativas patologías, pero, sobre todo, en las concernientes al axis cerebro/intestino en donde, actualmente, sabemos que reside el control del balance energético.

Se puede decir que el estudio del microbioma comenzó con el cambio de milenio en 2001. El Premio Nobel Dr. Lederberg acuñó el término microbioma por primera vez y sugirió que los microorganismos que habitan en el cuerpo humano deberían ser incluidos como parte de su genoma por la influencia que ejercen en su fisiología.

Las primeras publicaciones sobre microbioma comenzaron en 2007-8. De todo ello les hablará el Dr. Sentandreu, con gran conocimiento de causa. Es Catedrático de Microbiología y, actualmente, Profesor Emérito de la Universidad de Valencia, posee una amplia formación microbiológica. Sus investigaciones, tanto en España como en su periodo formativo en el extranjero, se han efectuado en dicha vertiente. Así como sus múltiples trabajos publicados y algunas patentes.

Es Doctor por la Universidad de Cambridge y fue

Research Associate en Waskman Institute of Microbiology, Rutgers Universidad de New Jersey en USA. Posteriormente en España ha sido Catedrático de Microbiología en Barcelona y en Valencia, donde, junto con su mujer, Investigadora del CSIC, desarrollaron una intensa labor investigadora. Tiene 43 Tesis doctorales dirigidas y 27 capítulos de libros de la especialidad. Además del Premio Severo Ochoa en 1988 y el Alberto Sols a la Mejor Labor Investigadora en Ciencias de la Salud en 1994.

¿Por qué este tema?

En la fisiología humana, y, en general, en la de mamíferos, una de las cuestiones más importante a salvaguardar para la salud es el balance energético y, hoy, estamos en condiciones de afirmar que dicho equilibrio energético se regula por el eje peptinérgico cerebro/intestinal.

El conocimiento de la regulación de la homeostásis energética es necesario para tratar la obesidad patológica, que, a su vez, es un factor de riesgo para patologías como la diabetes, cardiovasculares y ciertas neoplasias. Pero, además, la salvaguarda del balance energético es básica y esencial en periodos de desarrollo y crecimiento de los mamíferos, como sabemos los investigadores perinatalistas. Y todo ello sitúa al aparato digestivo y a sus relaciones con el cerebro en primera línea de cuestiones terapéuticas a investigar.

Desde finales del siglo XX, y lo que llevamos del XXI, se ha profundizado en dichas relaciones cerebro/intestino, y se ha llegado al establecimiento del eje peptinérgico correspondiente.

Por espacio de más de cuarenta años hemos asistido al hallazgo de neuropéptidos que se encuentran en el cerebro, concretamente en el hipotálamo, pero que, también, algunos son secretados en el intestino, como la colecistoquinina, las β -endorfinas, orexinas o algunos neurotransmisores, como el glutamato, por citar algunos. En 1953 se estableció que en los mamíferos existía un sistema adipostático por el cual el equilibrio entre la ingesta y la energía gastada permite mantener estable la masa adiposa. Y experiencias, dañando el hipotálamo en roedores, mostraban que en dicho sistema adipostático existía una implicación cerebral.

El descubrimiento de la leptina, en 1994 (1), el producto del gen *ob* de los adipocitos, y también de sus receptores, vino a aclarar muchas cuestiones acerca de la regulación, a través del cerebro, del equilibrio energético. Se estableció cómo la leptina y la insulina rinden cuenta al cerebro del nivel de la materia grasa existente, ya que ambas aumentan paralelamente a ella. La leptina pertenece a la familia de las citoquinas, concretamente, de la interleuquina-6 y estimula, además, la proliferación de timocitos. Se secreta en el tejido adiposo, pero, también,

en la placenta, tejido esquelético, la pared del estómago y en el epitelio mamario. Ni la leptina ni la insulina se han encontrado en cerebro, pero si existen en él, profusamente, sus receptores. La leptina y la insulina secretadas en la periferia suben al cerebro por transcitososis a través del líquido cefalorraquídeo.

Hoy sabemos que existe un sistema de regulación del balance energético a largo plazo que consigue mantener las reservas grasas estables con la apertura o no de la ingesta, y que está liderado por leptina e insulina. Pero que, también, existe un sistema para salvaguardar el equilibrio energético a corto plazo efectuado por una gran cantidad de neuropépticos llamados orexigénicos, si abren el apetito, y anorexigénicos si lo cierran, pero, además, ambos sistemas cooperan.

Entre los más importantes orexigénicos está el péptido Y (NPY), que se segrega en el núcleo arcuato del hipotálamo y se almacena en el paraventricular. El sistema cerebral catabólico que cierra el apetito es el Sistema Melanocortina Central, concretamente la alfa-melanocortina derivada de la molécula POMC (proopiomelanocortina) secretada en el núcleo arcuato. No nos podemos entretener por razones de tiempo, pero recomiendo a los interesados en el tema la monografía n.º XVIII de esta Academia que coordiné en el año 2005. La Monografía se titula “Mecanismos moleculares y neuroendocrinos del balance energético: patologías”.

En 1998 fueron descubiertas las orexinas (2) que se secretan en el hipotálamo lateral, así como en neuronas y células secretoras del intestino, estómago y páncreas, las cuales parecen tener un papel integrador de las dos vías para modular el equilibrio energético. Las orexinas están implicadas en el transporte al cerebro de las respuestas intestinales. El estudio del desequilibrio de ellas es fundamental en patologías como la narcolepsia, ya que son orexigénicas, abren el apetito, pero a su vez producen vigilia regulando el sueño.

Al hablar de animales gnotobióticos, que carecen de microbioma, hemos dicho que se desarrollan mal, sobre todo, en el sistema inmune y el tracto intestinal. Y consecuentemente en esta Mesa Redonda nos estamos preguntando si la microbioma intestinal juega algún papel en la ligazón tan enorme que existe, aún no completamente conocida, entre el intestino y el cerebro. En 2016 en un *Annual Review of Physiology* se puede leer un trabajo titulado “Inflamación hipotalámica en el control de funciones metabólicas” firmado por Martín Valdearcos y colaboradores en el Diabetes Center de la Universidad de California (3); en este trabajo se habla de que la sobrenutrición produce inflamación en los tejidos periféricos diana de la insulina y que, al tratar dicha inflamación, se consigue preservar la sensibilidad a la insulina en los obesos. Estudian la inflamación por exceso de dieta en células localizadas en el hipotálamo medio basal, donde se encuentra el núcleo arcuato, el área cerebral que controla el metabolismo periférico de glucosa, grasa y energía por sus secreciones de los neuropéptidos orexigénicos y anorexigénicos Comparan las diferencias

entre la inflamación periférica y la cerebral e intentan contener la inflamación hipotalámica para mejorar patologías metabólicas.

Y en 2015 encontramos un estudio, “Células enteroendocrinas: quimiosensores en el epitelio intestinal” (4), donde se puede leer la importancia del conocimiento de las células enteroendocrinas o células endocrinas del intestino, para el entendimiento de la patofisiología y terapéutica del axis que ellos llaman “intestino-cerebro-páncreas”. Claramente, cuanto más se investiga, más amplio es el conocimiento de la gran unión y relación entre el cerebro y el intestino en determinadas vertientes.

En este contexto es normal que ante la aparición del microbioma intestinal, el más abundante en microorganismos del cuerpo humano, nos preguntemos qué papel pueda representar en este equilibrio tan interconectado entre cerebro e intestino. Y, además, en un momento en que, realmente aún existen muy pocas publicaciones sobre la microbiota intestinal.

Por ello el segundo ponente les va a exponer trabajo propio sobre dicho tema, mostrando que, como pensábamos, el microbioma intestinal, un factor externo que vive dentro del intestino, colabora en funciones de equilibrio energético a nivel cerebral.

El Dr. Sebastián Cerdán García-Esteller es Profesor de Investigación del CSIC y es el responsable del laboratorio de Imagen y Espectroscopia por Resonancia Magnética de Alto Campo (LIERM) del CSIC desde 1989.

Lleva muchos años trabajando en el Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols, de cuyo centro fue Director, y ha sido también Vocal y Presidente de la Sociedad Europea de Resonancia Magnética y miembro del Consejo Directivo de la Sociedad Internacional de Resonancia Magnética en Medicina. Se formó en la Universidad de Pennsylvania y en Suiza, Universidad de Basel, con una beca EMBO. Es autor de muchos artículos siempre de la misma temática. Su objetivo general es el desarrollo y evaluación de nuevas aplicaciones biomédicas de la Resonancia Magnética, y lleva muchos años trabajando en imagen y espectroscopia en dicha vertiente. Podríamos decir que es un ejemplo actual, sin duda, de la buena ciencia española que realizamos, como lo ha sido también el Dr. Sentandreu.

Al Dr. Cerdán lo vamos a oír en un tema propio y puntero, como es la microbiota intestinal interactuando a nivel cerebral, de lo cual, además, a nivel mundial, existe aún muy poca bibliografía y trabajos realizados. Y dado que fue publicado en *Nature Communications* nos remitimos a la publicación en inglés para su consulta (5).

Bibliografía

1. Pascual-Leone AM. Balance energético: Leptina. *Anal Real Acad Nac Farm* 2003; 69: 257-87.
2. Pascual-Leone AM. Eje cerebro-intestinal: orexinas. *Anal Real Acad Nac Farm* 2004; 70: 905-31.
3. Valdearcos M, and col. Hypothalamic Inflammation in the control of Metabolic Function. *Annu Rev Physiol* 2015; 77: 131-60.

4. Gribble FM, Reimann F. Enteroendocrine Cells: Chemosensors in the Intestinal Epithelium. *Ann Rev Physiol* 2016; 78: 277-99.
5. Frost G, Sleeth ML, Sahuri-Arisoylu M, Lizarbe B, Cerdán S, Brody L, Anastasovska J, Ghourab S, Hankir M, Zhang S, Carling D, Swann JR, Gibson G, Viardot A, Morrison D, Thomas EL, Bell JD. The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nat Commun* 2014 Apr 29; 5: 3611. doi: [10.1038/ncomms4611](https://doi.org/10.1038/ncomms4611).

El hombre y los microorganismos: el eje cerebro-intestino

Title in English: *Man and microorganisms: the gut-brain axis*

Rafael Sentandreu Ramón

Profesor Emérito de la Universidad de Valencia y Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.

ABSTRACT: Bacteria have colonized *Homo sapiens* as parasites (causing disease and death) and also as mutualists (microbioma). As a mutualist the microbioma is used as a marker of specific diseases and it is proposed the existence of a microbiota-intestine-brain axis whose incorrect functioning is responsible for brain disorders: behavior, anxiety, depression, multiple sclerosis, Alzheimer's disease... Among the possible intermediates that connect the intestine with the brain are the immune system, neuropeptides and microbial metabolites. The connection to the brain can be channeled through the vagus nerve but also through the autonomous nervous system. Human brain images have been obtained that relate the composition of the microbiota to emotion, and we now need the studies done with rodents to be extended to humans in order to confirm that probiotics have an effect on mental health. The microbiome is part of a mutualistic ecosystem necessary to *Homo sapiens* so that it can survive as a species.

RESUMEN: Las bacterias han colonizado al *Homo sapiens* como parásitos (provocando la enfermedad y la muerte) y también como mutualistas (microbioma). Como mutualistas el microbioma se utiliza como marcador de enfermedades específicas, y se propone la existencia de un eje microbiota-intestino-cerebro cuyo funcionamiento incorrecto es responsable de trastornos cerebrales: comportamiento, ansiedad, depresión, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer... Entre los posibles intermediarios que conectan el intestino con el cerebro se encuentran el sistema inmunitario, neuropeptidos y metabolitos microbianos. La conexión con el cerebro puede canalizarse por el nervio vago pero también por el sistema nervioso autónomo. Se han obtenido imágenes cerebrales en humanos que relacionan la composición de la microbiota con la emoción y actualmente necesitamos que los estudios realizados con roedores se amplíen a humanos para poder confirmar que los probióticos tienen efecto sobre la salud mental. El microbioma forma parte de un ecosistema mutualista necesario al *Homo sapiens* para que pueda sobrevivir como especie.

Corresponding Author: rafael.sentandreu@uv.es

An Real Acad Farm Vol. 83, Nº 3 (2017), pp. 360-370

Es interesante recordar un fenómeno que todos hemos experimentado en algún momento de nuestra vida. Me refiero que ante una situación de tensión emocional, nuestro sistema nervioso intestinal reacciona al unísono sugiriéndonos la existencia de algún tipo de conexión entre ambos, el cerebro y el intestino. Pero lo verdaderamente significativo es que hasta hace relativamente poco tiempo

no se habían obtenido datos adecuados que apoyaran la idea de que las responsables de este efecto fueran las bacterias intestinales. La Figura 1 incluye la definición de algunos de los términos más significativos que se utilizan en este trabajo.

TÉRMINOS

El término **microbioma** incluye a todos los microorganismos, procarióticos y eucarióticos y su material genético, presentes en los diferentes ecosistemas del cuerpo.

El término **microbiota**, incluye al total de la población microbiana presente en los diferentes ecosistemas del cuerpo.

Probióticos son microorganismos vivos que, cuando se ingieren en las cantidades adecuadas, pueden aportar beneficios para la salud de quien los consume. Se trata de bacterias o levaduras que están presentes en alimentos, medicamentos o suplementos dietéticos.

Fig. 1

En la Figura 2 se presenta el árbol filogenético universal de acuerdo con el sistema de tres dominios: bacterias, archaeas y eukarya (Eric Gaba (Sting - fr:Sting) - NASA Astrobiology Institute.

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=26075698>). Este árbol se construyó a partir de la comparación de las secuencias de RNA ribosómico 16S y 18S y nos recuerda que los primeros habitantes de nuestro planeta

fueron bacterias que aparecieron hace unos 3.500 millones de años y durante más de 2.000 millones fueron básicamente sus únicos habitantes. En el árbol filogenético descubrimos como los seres vivos fueron evolucionando

hasta llegar al *Homo sapiens* y todos, conforme aparecieron, tuvieron que adaptarse a convivir con los anteriores pobladores.



Fig. 2

Las bacterias son no solo los organismos más antiguos y más abundantes del planeta sino que además son unicelulares, microscópicos, y debido a su naturaleza haploide, son los que más fácilmente se adaptan a las condiciones del medio y a la convivencia con otros seres vivos. Las bacterias son ubicuas y las encontramos en todos los hábitats terrestres, acuáticos y aéreos. Las bacterias, y en general muchos microorganismos, son uno más en nuestras casas, las traen nuestros amigos, las encontramos en el teléfono móvil, en la paella que nos comemos o las intercambiamos con el beso con que saludamos a nuestros íntimos.

¿Qué buscan los microorganismos que cohabitan con nosotros? Como es obvio cumplen con la ley básica de la biología: todas las especies deben alimentarse y

reproducirse lo más rápidamente posible a fin de evitar ser desplazados del nicho ecológico correspondiente. Las bacterias buscan ocupar nuevos nichos adaptándose al mismo; esta adaptación en el caso de las bacterias que colonizan al *Homo sapiens* se ha podido consumir mediante tres mecanismos: 1. Parasitismo en el que la relación entre el hombre y las bacterias es tal que estas últimas (el parásito) obtiene beneficios. Frecuentemente el hombre (el huésped) recibe un daño que puede provocar su muerte. 2. Comensalismo en que la relación es beneficiosa para la bacteria e indiferente para el hombre, y 3. Mutualismo en que la relación entre la bacteria y el hombre es beneficiosa para ambos y en ocasiones uno o ambos terminan siendo estrictamente dependientes (Figura 3).

Simbiosis

(del griego: syn, 'juntos' y biosis, 'vivir') se aplica a la relación persistente entre organismos de diferentes especies.

Parasitismo es la relación entre individuos de diferentes especies en la cual la que una de ellas (parasito) obtiene beneficios. Frecuentemente el hospedador recibe un daño que puede provocar su muerte.

Comensalismo la relación es beneficiosa para una de ellas e indiferente para la otra.

Mutualismo es una relación entre individuos de diferentes especies, en donde ambos se benefician y en ocasiones uno o ambos terminan siendo estrictamente dependientes.

Fig. 3

¿Si convivimos con las bacterias cuál ha sido históricamente nuestra relación con ellas y con los microorganismos en general?

Una manera de acercarnos a la relación que ha existido es contrastar la esperanza de vida que ha tenido el *Homo sapiens* desde el paleolítico hasta nuestros días, es decir desde hace más de dos millones de años hasta el siglo XXI.

La esperanza de vida media al nacer los miembros de la sociedad humana desde el paleolítico superior hasta hace un siglo no superaban los 30 años de edad si bien se contabilizaban personas que superaban con creces la media de la población. La Historia nos dice que tanto en la Grecia y Roma antiguas como durante el Renacimiento y la

Eras	Esperanza de vida media al nacer (años)
Paleolítico superior	33
Neolítico ⁵	20
Edad del Bronce ⁶	35
Grecia Clásica ⁷	28
Antigua Roma ⁷	28
Norteamérica Precolombina ⁸	25-30
Califato Islámico medieval ⁹	20+
Gran Bretaña en la edad Media ^{13 14}	30
Inicio del siglo XIX ^{15 16}	30-40
Inicio del siglo XX ^{17 18}	50-65
Media Mundial actual ¹⁹	71.4

Fig. 4

Desde la introducción de la vacunación y la utilización de los antibióticos la esperanza de vida media de las comunidades desarrolladas al nacer, y la esperanza de vida media individual, se ha igualado demostrándose de una manera convincente que las bacterias se adaptaron a convivir con *Homo sapiens* al menos como parásitos (Figura 5).

Sin embargo, hace ya más de 100 años que se encontró en individuos sanos, sobre todo en sus heces, la presencia de bacterias.

¿Qué están haciendo ahí esas bacterias? ¿Por qué no provocan la muerte?

Se demostró que la mayoría de las bacterias detectadas no podían cultivarse en el laboratorio. Si recordamos que, además del parasitismo, nuestra relación con las bacterias puede ser comensalismo o mutualismo y, dado que gran parte de las especies presentes en las heces no crecen “in vitro”, se fortalece el criterio de que muchas de ellas pudieran ser estrictamente dependientes del huésped, es decir, tuvieran una relación de mutualismo con el hombre. Hoy sabemos que diversos microorganismos colonizan el

Ilustración encontramos individuos que vivieron más de 70 años (Figura 4).

¿A qué se debió esa gran diferencia entre la esperanza de vida media de la población al nacer y la esperanza de vida individual? Hoy sabemos que entre las posibles razones se encuentran las guerras, las hambrunas y las enfermedades.

Hubo de esperar a los trabajos de Louis Pasteur y Robert Koch para confirmar el origen microbiano de las enfermedades infecciosas, confirmación que fue revalidada con el descubrimiento de la vacunación por Edward Jenner, y por el descubrimiento de los antibióticos por Alexander Fleming (penicilina) y Selman Abraham Waksman (actinomicina, estreptomycinina y neomicina) y otros.

Años de vida		
Tales de Mileto	78 años	625-547 a.C
Pitágoras	94 años	569-475 a.C
Sócrates	71 años	470-399 a.C
Platón	80 años	427-347 a.C
Averroes	72 años	1126-1198
Ibn Amira	74 años	1186-1260
Miguel Ángel	88 años	1475-1564
Galileo Galilei	77 años	1564- 1642
Isaac Newton	84 años	1642-1727
Charles Darwin	73 años	1809-1882
Esperanza de vida INDIVIDUAL 79 años		
Santiago Ramón y Cajal	82 años	
Alexander Fleming	74 años	
Ernest N Chain	73 años	
Severo Ochoa	89 años	
Francis Crick	88 años	
Esperanza de vida INDIVIDUAL 81 años		

cuerpo humano tras el nacimiento, permaneciendo en él en condiciones normales de salud a lo largo de su vida.

¿Qué microorganismos colonizan nuestro cuerpo?

Ante la dificultad de poder determinar la microbiota (la población total microbiana presente en los diferentes ecosistemas del organismo) por las técnicas ordinarias de la microbiología fue necesario, primero, que Watson y Crick propusieran en 1953 (1) la estructura del material genético, segundo, que Woese y Fox, en 1977 (2), propusieran que la secuencia del gen de 16S de RNA ribosómico de los organismos procariontes podía utilizarse en su clasificación taxonómica (posteriormente se demostró que el gen equivalente de 18S de los eucariotes también es válido en la taxonomía de los organismos superiores incluyendo al *Homo sapiens*) y, tercero, que se desarrollaran técnicas genéticas adicionales que permiten determinar el total de los genes que se encuentran en un nicho ecológico, sin necesidad de crecer los microorganismos en el laboratorio y con la información obtenida deducir los productos codificados y las especies.

Datos publicados en 2015.†

Puesto general	País	Esperanza de vida general	Puesto esperanza de vida de varones	Esperanza de vida de varones al nacer	Puesto esperanza de vida de mujeres	Esperanza de vida de mujeres al nacer
1	Japón	84	1	80	1	87
2	España	84	1	80	2	86
3	Andorra	84	1	80	2	86
4	Australia	83	2	81	4	85
5	Suiza	82	2	81	4	85
6	Italia	83	5	80	4	85
7	San Marino	83	5	80	4	85
8	Singapur	82	5	80	4	85
9	Francia	83	15	79	11	85
10	Mónaco	83	15	79	11	85

Fig. 5

En el año 2000 el premio Nobel Joshua Lederberg (3) sugirió que los microorganismos que habitan en el cuerpo humano, y que llamó microbioma, deberían ser incluidos como parte de su genoma debido a la influencia que tienen sobre su fisiología. Otros investigadores le llaman «el órgano perdido» y «el genoma extendido».

En 2007 los Institutos Nacionales de la Salud de los

Estados Unidos presentaron un proyecto con la finalidad de caracterizar completamente la microbiota humana y determinar su papel en la salud y en la enfermedad (NIH HMP Working Group. 2009). Además, se creó el Consorcio Internacional del Microbioma Humano (IHMC) cuyos trabajos se iniciaron oficialmente en septiembre de 2008 con 10 países participantes (Figura 6).

En 2007 los Institutos Nacionales de la Salud de los Estados Unidos presentaron un **proyecto** con la finalidad de caracterizar completamente la microbiota humana y determinar su papel en **la salud y en la enfermedad** (NIH HMP Working Group. 2009).

Además se creó el **International Human Microbiome Consortium, (IHMC)**, cuyos trabajos se iniciaron oficialmente en **setiembre de 2008 con 10 países participantes**.

Fig. 6

Los resultados obtenidos han confirmado que en nuestro cuerpo se encuentran más de 1.000 especies distintas de bacterias y que aproximadamente 100 billones de microorganismos que codifican aproximadamente 3 millones de genes (el genoma humano contiene unos 23.000 genes) (Figura 7). A pesar de tener más bacterias que células propias, el microbioma (el conjunto de microorganismos más sus genes) tan solo representa unos 200 gramos. Lo que es significativo es que la gran mayoría de estos microorganismos son responsables de funciones vitales, como son la expresión de determinados genes de los que carecen las células humanas y de su participación en la prevención de enfermedades.

El conocimiento aportado por el proyecto sobre el microbioma humano se usa hoy como marcador de

enfermedades específicas y recientemente se ha propuesto la existencia de un eje intestino-cerebro (Figura 8). El funcionamiento incorrecto de este eje, que denominamos eje microbiota-intestino-cerebro, es el responsable de los trastornos gastrointestinales (4), de las enfermedades inflamatorias intestinales (5), obesidad y síndrome metabólico (6) (Figura 8). Pero lo más significativo es que el eje microbiota-intestino-cerebro está implicado directamente en trastornos cerebrales no gastrointestinales, como en el comportamiento, la ansiedad y la depresión, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y el autismo (7-11), sugiriendo que la microbiota intestinal se comunica directamente con el sistema nervioso central (SNC) influenciando la función y comportamiento del cerebro.

¿Qué microorganismos colonizan nuestro cuerpo?

Nuestro cuerpo se encuentran más de 1.000 especies distintas de bacterias y que aproximadamente 100 billones de microorganismos que codifican aproximadamente 3 millones de genes (el genoma humano contiene 23.000 genes). A pesar de tener más bacterias que células propias, el microbioma (el conjunto de microorganismos más sus genes) tanto solo representan unos 200 gramos pero la gran mayoría son responsables de funciones vitales como la intervención en la expresión de genes y prevención de enfermedades; es por ello por lo que el microbioma también ha sido llamado «el órgano perdido» y «el genoma extendido».

Fig. 7

EJE MICROBIOTA-INTESTINO-CEREBRO MARCADOR DE ENFERMEDADES

Alteraciones en el funcionamiento del eje microbiota-intestino-cerebro son responsables de trastornos gastrointestinales (Mayer y Tillisch, 2011), de enfermedades inflamatorias intestinales (Mayer et al., 2014), obesidad y síndrome metabólico (Yau et al., 2012). **Además, la microbiota también está implicada en trastornos cerebrales no gastrointestinales, como la ansiedad y la depresión, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y el autismo (Cryan y Dinan, 2012, Naseribafrouei et al., 2014, Jiang et al., 2015, Mayer et al., 2015, Scheperjans et al., 2015).**

Fig. 8

A fin de conocer algunos aspectos del funcionamiento el eje microbiota-intestino-cerebro diversos grupos de investigación han modificado la microbiota o recurrido al suplemento de probióticos (microorganismos vivos que cuando se ingieren en las cantidades adecuadas, pueden aportar beneficios para la salud de quien los consume; se trata de bacterias y/o levaduras que están presentes en alimentos, medicamentos o suplementos dietéticos) para

determinar su efecto sobre la ansiedad y el comportamiento, ambos como medida de su influencia en la función cerebral. Como resultado de la información obtenida hoy se proponen tres vías posibles de conexión del intestino con el cerebro, a través del sistema inmune, de la vía endocrina y con la participación de metabolitos microbianos (Figura 9).

EJE MICROBIOTA-INTESTINO-CEREBRO

Vías posibles de conexión

1. Sistema inmune.
2. Sistema endocrino
3. Metabolitos microbianos

Fig. 9

EL EJE MICROBIOTA-INTESTINO-CEREBRO Y EL SISTEMA INMUNITARIO

Hoy conocemos datos clave sobre la implicación del sistema inmune en el funcionamiento del eje microbiota-intestino-cerebro. Ya en el 2012 Cryan y Dinan (12)

obtuvieron resultados que sugerían la existencia de vías en el intestino que juegan un papel importante en la señalización de la microbiota al cerebro. Estos estudios revelaron, cómo variaciones y cambios en la composición de la microbiota intestinal influyen no solo en la fisiología

normal, sino que contribuyen a procesos patológicos como la inflamación y la obesidad pero sobre todo, que implican el que la microbiota intestinal pueda comunicarse directamente con el sistema nervioso central (SNC), a través del sistema inmune (12). Sin embargo el hecho de que la administración de un microorganismo a un individuo garantiza prácticamente siempre la respuesta inmune provocó un gran interés en esta línea de investigación para que confirmara los resultados descritos (13).

Actualmente contamos con datos reveladores que relacionan el papel del sistema inmunitario con el

comportamiento, en lo que denominamos “neurociencia de la conducta”, datos que obtenidos con trabajos utilizando ratones con la delección de genes implicados en la maduración de anticuerpos, como el gen RAG-1 que genera animales carecen de células T y B maduras manteniéndose silenciado el sistema inmune adaptativo; estos ratones a pesar de ello muestran una reducción en la ansiedad (14). Si a estos resultados añadimos los obtenidos por otros autores (15-17) es razonable concluir que hoy ya tenemos datos suficientes que confirman el papel del sistema inmune en el comportamiento a través del eje microbiota-intestino-cerebro (Fig. 10).

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO Y EL SISTEMA INMUNITARIO

Hoy contamos con datos reveladores que relacionan el papel del sistema inmune con el comportamiento, en lo que denominamos "neurociencia de la conducta", datos obtenidos con trabajos utilizando ratones con la delección de genes implicados en la maduración de anticuerpos, como el gen RAG-1 que genera ratones carecen de células T y B maduras manteniéndose silenciado el sistema inmune adaptativo; estos ratones a pesar de ello muestran una reducción en la ansiedad. Si a estos resultados añadimos los obtenidos por otros autores (Sankar et al., 2012, Rilett et al., 2015, De Leon-Nava et al., 2009) es razonable concluir que hoy ya tenemos datos suficientes que confirman definitivamente el papel del sistema inmune en el comportamiento a través del eje microbiota-intestino-cerebro

Fig. 10

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO Y SISTEMA ENDOCRINO

Los neuropéptidos son mediadores importantes tanto dentro del sistema nervioso como entre las neuronas y otros tipos de células como las endocrinas en el tracto gastrointestinal y otros órganos endocrinológicamente activos. Los neuropéptidos tales como la sustancia P, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina y el neuropéptido Y (NPY), el polipéptido intestinal vasoactivo, la somatostatina y el factor liberador de corticotropina también son susceptibles de desempeñar un papel en la comunicación bidireccional intestino-cerebro. Aparte de funcionar como neurotransmisores, muchos péptidos biológicamente activos también funcionan como hormonas intestinales (18) (Fig. 11).

Dado que los neuropéptidos y las hormonas intestinales se dirigen a los mismos receptores de membrana celular

(típicamente receptores acoplados a la proteína G), las dos funciones de mensajero convergen a menudo en las mismas implicaciones biológicas o similares. Esto está ejemplificado por NPY y el péptido YY (PYY), dos miembros de la familia de péptidos PP-veces. La función de las células enteroendocrinas liberadoras de PYY está directamente influenciada por los ácidos grasos de cadena corta generados por la microbiota intestinal a partir de la fibra indigestible, mientras que el NPY puede controlar el impacto de la microbiota intestinal sobre los procesos inflamatorios, el dolor, la función cerebral y el comportamiento.

La microbiota generando, como veremos a continuación, las sustancias citadas no solo modifica la actividad bioquímica del huésped sino que además y en reciprocidad utiliza moléculas producidas por las células del huésped, un ejemplo de mutualismo.

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO Y SISTEMA ENDOCRINO

Los neuropéptidos son mediadores importantes tanto dentro del sistema nervioso como entre las neuronas y otros tipos de células como las endocrinas en el tracto gastrointestinal y otros órganos endocrinológicamente activos. Los neuropéptidos tales como la sustancia P, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina y el neuropéptido Y (NPY), el polipéptido intestinal vasoactivo, la somatostatina y el factor liberador de corticotropina también son susceptibles de desempeñar un papel en la comunicación bidireccional intestino-cerebro. Con esta capacidad pueden influir en la actividad de la microbiota gastrointestinal y su interacción con el eje intestino-cerebral. Aparte de funcionar como neurotransmisores, muchos péptidos biológicamente activos también funcionan como hormonas intestinales.

Fig. 11.

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO Y METABOLITOS MICROBIANOS

La capacidad de la microbiota para influir en el comportamiento de los mamíferos por una vía independiente a la del sistema inmunitario se relaciona por su capacidad para sintetizar y/o reconocer sustancias iguales o análogas a las producidas por el sistema nervioso del huésped (19).

Aunque no se ha podido demostrar que la microbiota, tanto procariota como eucariota, pueda sintetizar sustancias análogas a neuropéptidos, sí que se sabe que son capaces de generar neurotransmisores y neuromoduladores (20). Las especies de los géneros *Candida*, *Escherichia*, *Streptococcus*, y *Enterococcus* sintetizan 5-hidroxitriptamina (5-HT), las de los géneros *Escherichia*, *Bacillus* y *Saccharomyces* generan dopamina y / o noradrenalina, los miembros del género *Lactobacillus* producen acetilcolina y los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* fabrican ácido gamma-aminobutírico (GABA) (21-24) (Fig. 12). Se ha descrito que la liberación por la microbiota de derivados de la dopamina en el lumen del intestino puede modificar los receptores opioides y cannabinoides, ya que determinados probióticos alteran su expresión en el intestino. Además la microbiota es capaz de producir dopamina y norepinefrina, hormonas

neuroendocrinas biológicamente activas y en cantidades suficientes para afectar la neurofisiología del huésped (23)

Como hemos visto anteriormente la producción de péptidos producidos por las células enteroendocrinas pudiera ser la respuesta a los metabolitos generados por la microbiota y por tanto este proceso resulta en su actuación como transmisores bidireccionales en la comunicación intestino-cerebro tanto en las vías aferentes, centrales y eferentes. Además, las células microbianas responden específicamente a los neuromediadores / neurohormonas producidos por el huésped. Ambos mecanismos confirman una adaptación de tipo mutualista que se ha desarrollado durante millones de años de coevolución conjunta. Podríamos decir que las moléculas implicadas forman parte de un "lenguaje" neuroquímico universal que algunos investigadores denominan "endocrinología microbiana" (25-27) entendiéndolo como tal la intersección de los campos de la microbiología y la neurofisiología y que se inició con la demostración de que neurotransmisores y otras moléculas como las drogas psicoactivas que influyen en las neuronas y producidos por el huésped durante el estrés, como la norepinefrina, aumentan dramáticamente el crecimiento bacteriano tanto in vitro e in vivo (Para la revisión véase 28).

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO Y METABOLITOS MICROBIANOS

Especies de los géneros *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* y *Enterococcus* sintetizan 5-hidroxitriptamina (5-HT), de los géneros *Escherichia*, *Bacillus* y *Saccharomyces* generan dopamina y / o noradrenalina, los del género *Lactobacillus* producen acetilcolina y los de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* fabrican ácido gamma-aminobutírico (GABA).

La liberación por la microbiota de derivados de la dopamina en el lumen del intestino puede modificar los receptores opioides y cannabinoides ya que determinados probióticos alteran su expresión en el intestino. Además la microbiota es capaz de producir dopamina y norepinefrina, hormonas endocrinas activas y en cantidades suficientes para afectar la neurofisiología del huésped (Asano et al. 2012)

Esta información sugiere que la microbiota intestinal es una fuente rica de compuestos aún no identificados con potencial terapéutico.

Fig. 12

ESTUDIO DEL EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO MEDIANTE IMÁGENES CEREBRALES

Como hemos visto todo indica que la implicación de la microbiota sobre el cerebro es importante, sin embargo hay que reconocer las dificultades para descifrar los vínculos directos reales entre ésta y la función cerebral. Tillisch y colaboradores en el 2013 (29) relacionaron imágenes cerebrales obtenidas por resonancia nuclear con la medida de los niveles de emoción en función de la composición de la microbiota en poblaciones humanas. Sus resultados fueron reveladores ya que encontraron que la ingestión de probióticos afecta las funciones cerebrales que procesan las regiones del cerebro que controlan la emoción y la sensación (Fig. 13). Actualmente las investigaciones en el campo de la imagen cerebral se realizan acoplado la

ecología microbiana del intestino con redes cerebrales a gran escala (30). Esta aproximación debe ayudarnos a determinar cómo el microbioma influye en la función cerebral, e incluso identificar mediadores del eje intestino-cerebro. Hoy tenemos la gran suerte en esta mesa redonda de contar a continuación con nuestro compañero académico Sebastian Cerdán, que nos va a presentar los resultados obtenidos utilizando técnicas de imagen y espectroscopía de resonancia magnética que permiten visualizar las estructuras cerebrales activadas por los productos de la microbiota.

Pero antes de terminar permítanme unas palabras sobre el futuro de los estudios sobre el eje microbiota-intestino-cerebro y los desafíos a que se encuentra desde el punto de vista de la investigación.

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO E IMÁGENES CEREBRALES

Tillisch y colaboradores en el 2013 relacionaron **imágenes cerebrales obtenidas por resonancia magnética** con la medida de los niveles de emoción en función de la composición de la microbiota en poblaciones humanas. Sus resultados fueron reveladores ya que encontraron que la ingestión de probióticos afecta las funciones cerebrales que procesan las regiones del cerebro que controlan la emoción y la sensación. Actualmente la investigación en el campo de la imagen cerebral se realiza acoplado la ecología microbiana del intestino (Saulnier et al., 2011) con redes cerebrales a gran escala (Irimia y Van Horn, 2013). Esta aproximación debe ayudarnos a determinar cómo el microbioma influye en la función cerebral e incluso identificar mediadores del eje intestino-cerebro.

Fig. 13

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO: HOY Y EL FUTURO

La información descrita más arriba intenta contestar como la microbiota puede tener efectos sobre los mecanismos conscientes e inconscientes de la mente. Hoy se barajan tres posibilidades: La primera a través del sistema inmunitario intestinal, el cual a su vez modula el

sistema nervioso central, la segunda a través de la producción de neuropépticos, y la tercera a través de metabolitos microbianos que difunden por los tejidos a través del sistema sanguíneo. Según algunos autores la conexión importante se produciría por el nervio vago pero también por el sistema nervioso autónomo. Debemos esperar trabajos futuros para definir la ruta o rutas

preferentes o quizás vías desconocidas actualmente y que se descubran en el futuro. Es importante conocer de inmediato estas rutas, dada su trascendencia, a fin de poder solucionar los problemas neurológicos actuales. Para terminar señalar que entre los aspectos que requieren atención inmediata se encuentran: 1) Identificación de una o más moléculas sintetizadas por microorganismos específicos como responsable del efecto detectado y confirmar la unión de la molécula o moléculas

identificadas al receptor específico bien dentro o fuera del intestino. 2) Necesitamos conocer mejor las cascadas de señalización en entornos naturales, clínicos y experimentales. Y 3) necesitamos, dado que la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha han sido hechos con roedores, ampliarlos a humanos para poder confirmar si los probióticos, aquellos que llamamos psicobióticos, tiene el efecto deseado sobre la salud mental (31) (Figura 14).

EL EJE MICROBIOTA-INTestino-CEREBRO

Aspectos que requieren atención inmediata

- 1) identificación de **una o más moléculas sintetizadas por microorganismos específicos** como responsable del efecto detectado y confirmar la unión de la molécula o moléculas identificadas al receptor específico bien dentro o fuera del intestino.
- 2) Necesitamos conocer mejor, gracias a la ayuda de la metabolómica, **las cascadas de señalización en entornos naturales, clínicos y experimentales.**
- 3) Necesitamos, dado que la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha han sido hechos con roedores, **ampliarlos a humanos** para poder confirmar si los probióticos, aquellos que llamamos psicobiótico tiene efectivamente el efecto deseado sobre la salud mental (Dinan et al.,)

Fig. 14

Finalmente permítanme ahora presentarles unas conclusiones del trabajo expuesto:

1. Las bacterias han colonizado al *Homo sapiens* como parásitos (provocando la enfermedad y la muerte) y también como mutualistas (microbioma). 2. Como mutualistas el microbioma se utiliza como marcador de enfermedades específicas y se propone la existencia de un eje microbiota-intestino-cerebro cuyo funcionamiento incorrecto es responsable de trastornos cerebrales: comportamiento, ansiedad, depresión, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer,...

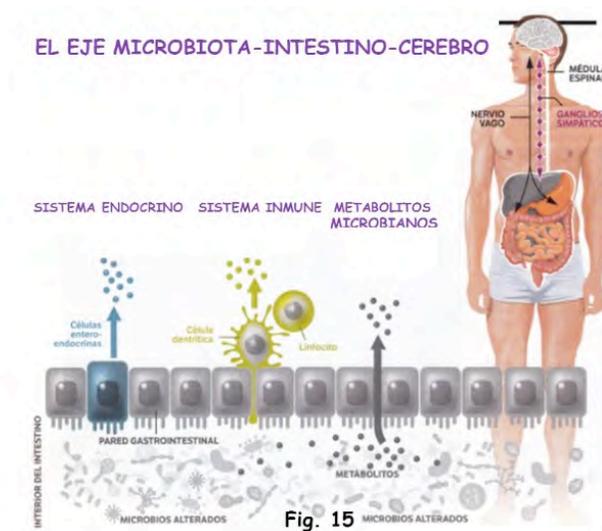
3. Entre los posibles intermediarios que conectan el intestino con el cerebro se encuentran el sistema inmunitario, neuropéptidos y metabolitos microbianos. La

conexión con el cerebro puede canalizarse por el nervio vago, pero también por el sistema nervioso autónomo [Figura 15, modificada de Muy Interesante 426, 66-70 (2016)].

4. Se han obtenido imágenes cerebrales en humanos que relacionan la composición de la microbiota con la emoción.

5. Necesitamos que los estudios realizados con roedores se amplíen a humanos para poder confirmar que los probióticos tiene efecto sobre la salud mental.

6. El microbioma forma parte de un ecosistema mutualista necesario al *Homo sapiens* para que pueda sobrevivir como especie.



CONCLUSIONES

1. Las bacterias han colonizado al *Homo sapiens* como **parásitos** (provocando la enfermedad y la muerte) y también como **mutualistas (microbioma)**.
2. El **microbioma** se usa como **marcador de enfermedades específicas** y se propone la existencia de un eje **microbiota-intestino-cerebro** cuyo funcionamiento incorrecto es responsable de trastornos cerebrales: comportamiento, ansiedad, depresión, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer...
3. Entre los posibles intermediarios que conectan el intestino con el cerebro se encuentran el **sistema inmune, sistema endocrino y metabolitos microbianos**. La conexión con el cerebro puede canalizarse por el **nervio vago** pero también por el **sistema nervioso autónomo**.
4. Se han obtenido imágenes cerebrales en humanos que relacionan la composición de la **microbiota con la emoción**.
5. Necesitamos que los estudios realizados con roedores se amplíen a humanos para poder confirmar que los **probióticos** tiene efecto sobre la salud mental.
6. El **microbioma forma parte de un ecosistema mutualista necesario al *Homo sapiens* para que pueda sobrevivir como especie**.



Fig. 16

REFERENCIAS

1. Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 1953; 171: 737-8.
2. Woese CR, Fox GE. The concept of cellular evolution. *J Mol Evol* 1977; 20: 1-6.
3. Lederberg J. Infectious history. *Science* 2000; 288: 287-93.
4. Mayer EA, Tillisch K. The brain-gut axis in abdominal pain syndromes. *Annu Rev Med* 2011; 62: 381-96.
5. Mayer EA, Savidge T, Shulman RJ. Brain-gut microbiome interactions and functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2014; 146: 1500-12.
6. Yau PL, Castro MG, Tagani, A, Tsui, WH, Convit A. Obesity and metabolic syndrome and functional and structural brain impairments in adolescence. *Pediatrics* 130, e856-864 (2012).
7. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2012; 13: 701-12.
8. Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, Sekelja M, Linløkken A, Wilson R, Rudi K. Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil* 2014; 26: 1155-62.
9. Jiang J, Liu F, Wan X, Jiang C. Perception of Melodic Contour and Intonation in Autism Spectrum Disorder: Evidence from Mandarin Speakers. *J Autism Dev Disord* 2015; 45: 2067-75.
10. Mayer EA, Tillisch K, Gupta A. Gut/brain axis and the microbiota. *J Clin Invest* 2015; 125: 926-38.
11. Scheperjans F, Aho V, Pereira PA, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E, Haapaniemi E, Kaakkola S, Eerola-Rautio J, Pohja M, Kinnunen E, Murros K, Auvinen P. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Mov Disord* 2015; 30: 350-8.
12. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2012; 13: 701-12.
13. Lyte M, Cryan JF. Dealing with ability of the microbiota to influence the brain, and ultimately cognition and behavioral. *Adv Exp Med Biol* 2014; 817: ix-xi.
14. Mombaerts P, Iacomini J, Johnson RS, Herrup K, Tonegawa S, Papaioannou VE. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes. *Cell* 1992; 6: 869-77.
15. Sankar A, MacKenzie RN, Foster JA. Loss of class I MHC function alters behavior and stress reactivity. *J Neuroimmunol* 2012; 244: 8-15.
16. Rilett KC, Friedel M, Ellegood J, MacKenzie RN, Lerch JP, Foster JA. Loss of T cells influences sex differences in behavior and brain structure. *Brain Behav Immun* 2015; 46: 249-60.
17. De León-Nava MA, Nava K, Soldevila G, López-Griego L, Chávez-Ríos JR, Vargas-Villavicencio JA, Morales-Montor J. Immune sexual dimorphism: effect of gonadal steroids on the expression of cytokines, sex steroid receptors, and lymphocyte proliferation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2009; 113: 57-64.
18. Holzer P, Farzi A. Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis. *Adv Exp Med Biol* 2014; 817: 195-219.
19. Lyte M. Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: how bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003726.
20. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science* 2012; 336: 1262-67.
21. Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays* 2011; 33: 574-81.
22. Forsythe P, Kunz WA. Voices from within: gut microbes and the CNS. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70: 55-69.
23. Asano Y, Hiramoto T, Nishino R, Aiba Y, Kimura T, Yoshihara K, Koga Y, Sudo N. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. *Am J*

- Physiol Gastrointest Liver Physiol 2012; 303: G1288-G295.
24. Barrett E, Ross RP, O'Toole PW, Fitzgerald GF, Stanton C. Gamma-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J Appl Microbiol* 2012; 113: 411-7.
 25. Lyte M. Microbial endocrinology and the microbiota-gut-brain axis. *Adv Exp Med Biol* 2014; 817: 3-24.
 26. Lyte M. Microbial endocrinology: Host-microbiota neuroendocrine interactions influencing brain and behavior. *Gut Microbes* 2014; 5: 381-9.
 27. Lyte M, Cryan JF. Dealing with ability of the microbiota to influence the brain, and ultimately cognition and behavioral. *Adv Exp Med Biol* 2014; 817: ix-xi.
 28. Lyte M. The microbial organ in the gut as a driver of homeostasis and disease. *Med Hypotheses* 2010; 74: 634-8.
 29. Tillisch K, Labus J, Kilpatrick L, Jiang Z, Stains J, Ebrat B, Guyonnet D, Legrain-Raspaud S, Trotin B, Naliboff B, Mayer EA. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology* 2013; 144: 1394-401.
 30. Irimia A, Van Horn JD. The structural, connectomic and network covariance of the human brain. *Neuroimage* 2013; 66: 489-99.
 31. Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry* 2013; 74: 720-6.