

Cerebro, te presento al intestino

Los neurocientíficos exploran las conexiones entre los microbios intestinales y el desarrollo del cerebro

Ha transcurrido casi un año desde que Rebecca Knickmeyer conoció a quienes participan en su más reciente estudio sobre el desarrollo cerebral. Rebecca Knickmeyer, una neurocientífica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Carolina del Norte en Chapel Hill, espera analizar, mediante el uso de una batería de pruebas de temperamento y de comportamiento, cómo 30 bebés recién nacidos han crecido hasta convertirse en inquisitivos niños de un año que gatean. En una de estas pruebas, la madre de un niño desaparecería de la sala de pruebas y reaparecería luego con un desconocido; en otra, se intensifica la rareza del ambiente con máscaras de Halloween. Luego de estas pruebas, si todo sale bien, los niños dormirán pacíficamente una siesta mientras una ruidosa máquina de resonancia magnética escaneará sus cerebros. "Tratamos de estar preparados para todo" dice Knickmeyer, "sabemos exactamente qué hacer si los niños se precipitan e intentan huir...".

Knickmeyer espera ansiosamente conocer algo más sobre estos niños: su microbiota fecal, el conjunto de bacterias, virus y otros microbios que viven en sus intestinos. Su proyecto, llamado cariñosamente "el estudio de la caca", es parte de un pequeño pero creciente esfuerzo de los neurocientíficos para determinar si los microbios que colonizan el intestino en la infancia pueden alterar el desarrollo del cerebro.

El proyecto llega en un momento crucial. Un creciente conjunto de datos, obtenidos principalmente a partir de animales criados en condiciones estériles, es decir libre de gérmenes, muestra que los microbios del intestino influyen en el comportamiento y pueden alterar la neuroquímica y la fisiología del cerebro. En humanos, los datos son más limitados. Los investigadores han establecido vínculos entre ciertas patologías gastrointestinales y las alteraciones psiquiátricas y neurológicas, tales como la ansiedad, la depresión, el

Traducción y adaptación
Verónica Ferreira
y María Laura Harispe

Este artículo es una traducción y adaptación del artículo: Brain, meet gut. Author: Peter Andrey Smith. Publicado en Nature. 2015. no. 526.

Verónica Ferreira es maestra de inglés y estudiante de traductorado público (UdelaR, Uruguay).

María Laura Harispe es bióloga, docente del Consejo de Formación en Educación (CFE, ANEP, Uruguay).

autismo, la esquizofrenia y los trastornos neurodegenerativos; pero son sólo conexiones. Rob Knight, un microbiólogo de la Universidad de California en San Diego dice: "En general, el problema de la causalidad en los estudios de microbioma es sustancial, es muy difícil determinar si las diferencias microbianas que se ven asociadas con las enfermedades son causas o consecuencias". Hay sin duda muchas preguntas pendientes; los indicios que demuestran los mecanismos por los cuales las bacterias intestinales pueden interactuar con el cerebro están comenzando a emerger, pero nadie conoce cuán importantes son estos procesos en el desarrollo y la salud humana.

Esto no ha impedido que algunas compañías de la industria de los suplementos nutricionales afirmen que los probióticos, bacterias que supuestamente ayudan con problemas digestivos, pueden ayudar a mantener el bienestar emocional. Las empresas farmacéuticas, ávidas de nuevas vías para tratar trastornos neurológicos, están empezando a invertir en proyectos de investigación relacionados con los microbios intestinales y las moléculas que estos producen.

Los científicos y los financiadores están buscando mayor claridad sobre este tema. En los últimos dos años, el Instituto Nacional de Salud Mental de Estados Unidos (NIMH) en Bethesda, Maryland, financió siete estudios piloto de hasta un millón de dólares cada uno para examinar lo que llama el "eje microbioma-intestino-cerebro" (la investigación de Rebecca Knickmeyer es uno de los estudios financiados). Este año, la Oficina de Investigación Naval de los Estados Unidos en Arlington, Virginia, acordó invertir fuertemente, en los próximos años, la suma de 52 millones de dólares en proyectos de investigación sobre el papel del intestino en la función cognitiva y en las respuestas al estrés. Por su parte, la Unión Europea ha invertido nueve millones de euros (10,1 millones de dólares) en un proyecto a cinco años llamado MyNewGut (Mi nuevo intestino), cuyos dos objetivos principales son el desarrollo y los trastornos del cerebro.

Los últimos esfuerzos intentan ir más allá de las observaciones y correlaciones básicas, pero los resultados preliminares sugieren respuestas complejas. Los investigadores están comenzando a descubrir un vasto y variado sistema en el que los microbios intestinales influyen en el cerebro a través de la producción de hormonas, moléculas del sistema inmune y metabolitos especializados: "Probablemente en este momento hay más especulaciones que datos duros", dice Knickmeyer. "Hay muchas preguntas abiertas sobre cuál sería el estándar de oro de los métodos que deberían aplicarse. En este momento todo está en fase exploratoria".

La idea de que los microbios pudieran interactuar con el cerebro era considerada una excepción, como en los casos en que los patógenos penetran en la barrera

hematoencefálica, la fortaleza celular que protege el cerebro de la infección y la inflamación. En estos casos pueden tener efectos de gran magnitud: el virus que causa la rabia provoca agresividad, excitación e incluso temor al agua. Pero durante décadas, la gran mayoría de la variedad natural de microbios del organismo no estaba caracterizada y la idea de que pudiera influir en la neurobiología no era en absoluto dominante. Lentamente, eso está cambiando.

Una de las claves para esclarecer las posibles conexiones fueron los estudios sobre brotes comunitarios. En el año 2000, una inundación en la ciudad canadiense de Walkerton contaminó el agua potable de la ciudad con agentes patógenos como *Escherichia coli* y *Campylobacter jejuni*. Aproximadamente 2.300 personas sufrieron infecciones gastrointestinales graves y muchas de ellas desarrollaron de manera crónica el Síndrome de Intestino Irritable (SII, también llamado colon irritable) como resultado directo.

Durante los ocho años posteriores a la ocurrencia del episodio, un equipo de investigación dirigido por el gastroenterólogo Stephen Collins de la Universidad McMaster en Hamilton, Canadá, hizo un seguimiento de aquellos residentes de Walkerton que fueron afectados¹. Los investigadores hallaron que problemas psicológicos como la depresión y la ansiedad parecían ser un factor de riesgo para el SII persistente. Premysl Bercik, otro gastroenterólogo de McMaster, dice que a partir de este estudio surgieron preguntas interesantes: ¿Podrían los síntomas psiquiátricos ser causados por la inflamación persistente o por la expulsión súbita del microbioma durante la infección?

El grupo McMaster comenzó a buscar respuestas en ratones. En un estudio del año 2011², el equipo hizo un trasplante de microbiota intestinal entre diferentes cepas de ratones y mostró que los rasgos de comportamiento específicos de una cepa de ratones se transmiten junto con la microbiota. Bercik dice, por ejemplo, que los ratones "relativamente tímidos" manifestarían un comportamiento más exploratorio al llevar la microbiota de ratones más aventureros. "Creo que es sorprendente. La microbiota realmente está impulsando al fenotipo conductual del huésped. Existe una diferencia notable", dice Bercik. Una investigación aun no publicada sugiere que tomar bacterias fecales de humanos con SII y ansiedad y trasplantarlas a ratones induce un comportamiento ansioso, mientras que cuando se trasplantan bacterias de humanos sanos como control, no se genera ese efecto.

Estos resultados pueden ser vistos con escepticismo. A medida que se desarrolla la investigación en este campo, dice Knight, los microbiólogos han debido aprender de los científicos que estudian el comportamiento, que la forma en que los animales son manipulados y enjaulados puede afectar la jerarquía social, el

estrés e incluso el microbioma. Y que estos experimentos y otros similares comienzan con un modelo muy poco natural: los ratones libres de gérmenes o gnotobióticos. Para evitar que estos animales recojan microbios se les hace nacer por cesárea, evitando así que sean colonizados por los microorganismos que residen en el canal de nacimiento de sus madres. Además, son criados dentro de aisladores estériles, con alimentos esterilizados por autoclave y aire filtrado. Los animales están así separados de muchos de los microbios comunitarios con los que su especie ha evolucionado durante eones.

En 2011, el inmunólogo Sven Pettersson y el neurocientífico Rochellys Diaz Heijtz, ambos en el Instituto Karolinska en Estocolmo, mostraron que, en pruebas de laboratorio, los ratones libres de gérmenes tenían un comportamiento menos agresivo que los ratones colonizados con microbios autóctonos naturales³ (desde un punto de vista evolutivo, menor ansiedad no siempre es algo bueno para un mamífero pequeño con muchos depredadores).

Cuando el equipo de Karolinska examinó el cerebro de estos animales libres de gérmenes, encontró que una región, el cuerpo estriado, tenía un mayor recambio de neuroquímicos clave asociados al comportamiento ansioso, incluyendo el neurotransmisor serotonina. El estudio también mostró que la introducción de ratones adultos libres de gérmenes en ambientes convencionales no estériles no logró normalizar su comportamiento, pero la descendencia de tales ratones convencionalizados mostró cierto retorno al comportamiento normal. Esto sugiere que hay una ventana crítica de tiempo, durante la cual los microbios tienen sus efectos más fuertes.

Para entonces, muchos investigadores estaban intrigados por la creciente evidencia, pero los resultados provenían principalmente de campos distintos a la neurociencia. "Los grupos que trabajan en esto son principalmente gente del intestino, en colaboración con solo algunas personas centradas en el área de la psicología", dice Melanie Gareau, fisióloga de la Universidad de California en Davis, "Los hallazgos tienden, por lo tanto, a describir cambios periféricos y de comportamiento en lugar de cambios en el sistema nervioso central".

Judith Eisen, una neurocientífica de la Universidad de Oregon en Eugene, obtuvo una financiación para estudiar el pez cebra libre de gérmenes. Los embriones transparentes de este pez permiten a los investigadores visualizar fácilmente el cerebro en desarrollo. "El estado libre de gérmenes es una situación completamente antinatural", dice Eisen, "pero ofrece la oportunidad de aprender qué funciones microbianas son importantes para el desarrollo de cualquier órgano específico o tipo de célula".

Mientras tanto, los investigadores empezaron a descubrir que hay formas de que las bacterias en el intestino pudiesen ser capaces de transmitir señales al cerebro. Pettersson y otros revelaron que en ratones adultos los metabolitos microbianos influyen en la fisiología básica de la barrera hematoencefálica⁴. Los microbios intestinales metabolizan carbohidratos complejos convirtiéndolos en ácidos grasos de cadena corta que tienen una serie de efectos; el ácido graso butirato, por ejemplo, estrecha las conexiones entre las células, fortaleciendo la barrera hematoencefálica (Figura 1).

Estudios recientes también demuestran que los microbios intestinales alteran directamente los niveles de neurotransmisores, lo que puede permitirles comunicarse con las neuronas. Por ejemplo, Elaine Hsiao, actualmente bióloga de la Universidad de California en Los Ángeles, publicó este año un trabajo⁵ que examina cómo ciertos metabolitos de los microbios intestinales promueven la producción de serotonina en las células que recubren el colon, un hallazgo interesante dado que algunos medicamentos antidepresivos funcionan aumentando la cantidad de serotonina en las uniones entre las neuronas. Estas células representan el 60% de serotonina periférica en ratones y más del 90% en humanos.

Al igual que el grupo Karolinska, Hsiao descubrió que los ratones libres de gérmenes poseen una cantidad significativamente menor de serotonina circulando en su sangre, y también mostró que los niveles podrían restablecerse al introducir en sus intestinos bacterias formadoras de esporas (mayormente del género *Clostridium*, que descomponen ácidos grasos de cadena corta). Por el contrario, cuando se les administra antibióticos a ratones con microbiota natural, se reduce la producción de serotonina. "Al menos con esas manipulaciones, está bastante claro que hay una relación de causa-efecto", dice Hsiao.

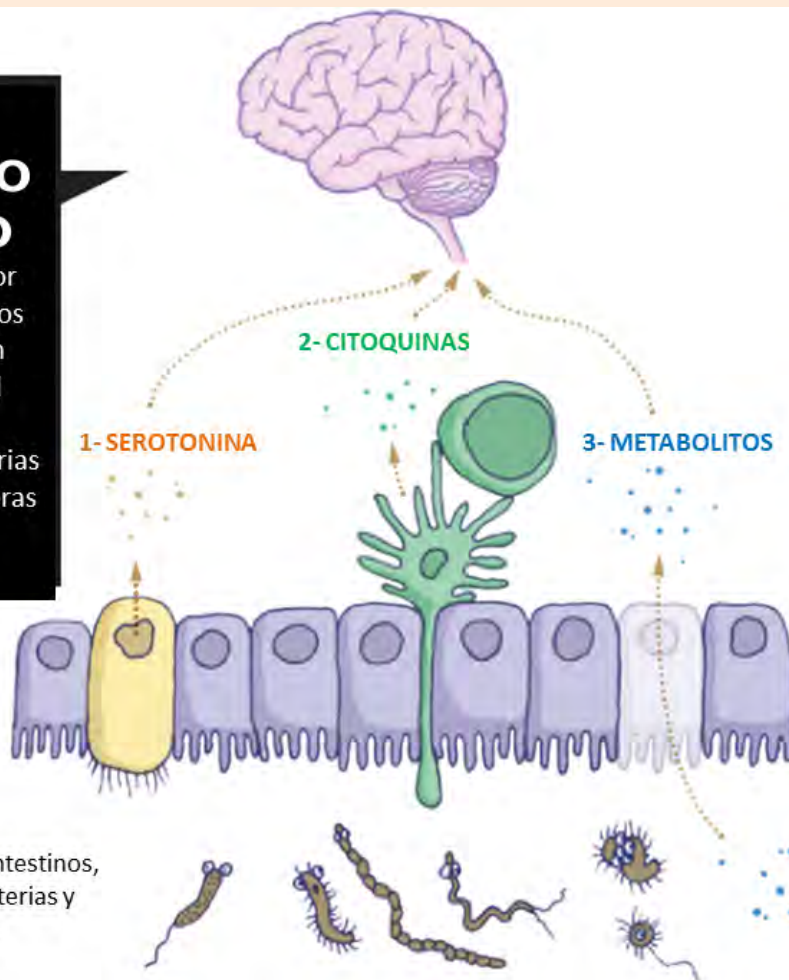
Sin embargo, aún no está claro si estos niveles alterados de serotonina en el intestino desencadenan una cascada de eventos a nivel molecular, que afectan a su vez la actividad cerebral. Tampoco se sabe si eventos similares tienen lugar también en humanos: "Será importante replicar los hallazgos anteriores, y trasladar estos hallazgos a la investigación en humanos para llegar realmente a los libros de texto", dice Hsiao.

Para John Cryan, un neurocientífico del University College Cork en Irlanda, no hay duda de que lo harán. Su laboratorio ha demostrado⁶ que los ratones adultos libres de gérmenes tienen más neuronas en una región específica del cerebro que los ratones convencionales. Cryan ha estado promoviendo los nuevos hallazgos en el eje intestino-cerebro tanto en el

EL EJE INTESTINO -CEREBRO

Los mecanismos por los que los microbios intestinales pueden comunicarse con el cerebro no están claros, pero hay varias pistas muy tentadoras para los investigadores.

Microbios del intestinos,
incluidas bacterias y
virus



1-SEROTONINA PERIFÉRICA
Las células del intestino producen grandes cantidades del neurotransmisor serotonina, el cual puede tener un efecto de señalización sobre el cerebro.

2-SISTEMA INMUNE
El microbioma intestinal puede inducir a las células inmunes a producir citoquinas que pueden influir en la neurofisiología.

3-MOLÉCULAS BACTERIANAS
Los microbios producen metabolitos como el butirato, que pueden alterar la actividad de las células de la barrera hematoencefálica.

campo de las neurociencias, como en el de la investigación sobre drogas psiquiátricas y entre el público en general. "Si consideramos sólo la neurociencia rigurosa que ha surgido en el último año, veremos que ahora se piensa que los microbios regulan todos los procesos fundamentales en los que los neurocientíficos han estado trabajando durante toda su vida", dice Cryan refiriéndose a los hallazgos sobre la regulación de la barrera hematoencefálica, la neurogénesis en ratones y la activación de la microglía y las células de tipo inmune que residen en el cerebro y la médula espinal.

En la reunión mantenida este mes en el Encuentro 2015 de la Sociedad para la Neurociencia ("Society for Neuroscience 2015 Annual Meeting") en Chicago, Illinois, Cryan y sus colegas planean presentar resultados que muestran que la mielinización, la formación de un revestimiento graso que aísla las fibras nerviosas, también puede verse afectada por los microbios intestinales, al menos en una parte específica del cerebro. Otros trabajos no relacionados⁷, han demostrado que los ratones libres de gérmenes están protegidos contra una condición similar a la esclerosis múltiple inducida experimentalmente, y que se caracteriza por la desmielinización de las fibras nerviosas. Al menos una compañía, Symbiotix Biotherapies en Boston, Massachusetts, ya está investigando si un metabolito producido por ciertos tipos de bacterias intestinales podría algún día ser utilizado para detener el daño en humanos con esclerosis múltiple.

Un paso hacia la terapia

Tracy Bale, una neurocientífica de la Universidad de Pennsylvania en Filadelfia, supone que las intervenciones simples en humanos ya podrían garantizarse. Bale conoció el trabajo de Cryan a través el programa de radio Radiolab hace tres años. En ese momento, ella estaba investigando la placenta, tratando de establecer cómo los microbios podrían encajar en un modelo sobre cómo el estrés materno afecta la descendencia.

Investigaciones publicadas este año⁸, en las que Bale somete ratones preñados a estímulos estresantes, demuestran que los niveles de *Lactobacillus* presentes en la vagina de los ratones se reducen notablemente. Estas bacterias son la fuente principal de los microbios que colonizan el aparato digestivo de las crías. Estos cambios en la composición microbiana fueron transmitidos a las crías nacidas por vía vaginal. Bale detectó, además, algunos indicios de que la microbiota podría afectar el neurodesarrollo, especialmente en los hombres.

En un trabajo que su grupo presentará en el Encuentro 2015 de la Sociedad para la Neurociencia, Bale demostró que al alimentar ratones bebés que nacieron por cesárea con la microbiota vaginal de ratones estresados, éstos pueden recapitular los efectos que tener una madre estresada provoca en el neurodesarrollo.

Bale y sus colegas están terminando ahora otra investigación que busca analizar si es posible tratar ratones provenientes de madres estresadas con la microbiota vaginal de ratones no estresados.

El trabajo tiene efectos de inmediatamente trasladables, dice Bale, refiriéndose al proyecto encabezado por María Domínguez-Bello, microbióloga de la Facultad de Medicina de la Universidad de Nueva York. En este trabajo, a los bebés nacidos por cesárea se les limpia la boca y la piel con un hisopo que contiene una gasa extraída de las vaginas de sus madres. Su equipo quiere ver si estos descendientes tienen finalmente una microbiota similar a la de los bebés nacidos por vía vaginal. "No es un estándar de cuidado", dice Bale, "pero apuesto a que algún día lo será".

Muchos son escépticos todavía sobre el vínculo entre los microbios y el comportamiento y sobre cuán importante será esto en la salud humana, pero en este momento los científicos parecen más inclinados a contemplar la idea que en el pasado. En 2007, por ejemplo, Francis Collins, ahora director de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos, sugirió que el Proyecto Microbioma Humano, un estudio a gran escala de los microbios que colonizan a los humanos, podría ayudar a desentrañar trastornos de la salud mental. "Sorprendió a algunas personas que supusieron que estábamos hablando de cosas que son más intestinales que cerebrales", dice Collins. "Si bien dimos un pequeño salto, ha sido respaldado pero con vacilación".

Las agencias de financiamiento están apoyando este campo emergente que abarca, entre otras disciplinas, la inmunología, la microbiología y las neurociencias. Para decidir si el área merece una inversión más sustancial, el NIMH ha ofrecido "fondos semilla" para trabajar en sistemas modelo y en humanos, una medida que ya ha atraído

más investigadores interesados en el área. El proyecto MyNewGut en Europa tiene una visión aún más optimista del valor de la investigación en este campo, buscando específicamente recomendaciones dietéticas concretas que puedan aliviar los trastornos relacionados con el cerebro.

Hoy, el proyecto de Knickmeyer sobre bebés representa lo que ella llama una especie de muestra desordenada de cualquier sujeto. Entre las regiones del cerebro que Knickmeyer está escaneando, la amígdala y la corteza prefrontal son las que presentan mayor interés. Utilizando modelos roedores ambas regiones se han visto afectadas por manipulaciones de la microbiota. Pero reunir y combinar todos estos datos con las docenas de otras medidas que se están tomando de los niños será un desafío.

"La gran pregunta es cómo lidiar con todos los factores confusos", dice Knickmeyer, refiriéndose a las dietas de los niños, los hábitos familiares y otras condicionantes ambientales que pueden afectar su microbiota y su desarrollo neurológico, y que deben ser tomados en cuenta por separado.

Knickmeyer especula que jugar con los microbios en el intestino humano para tratar los trastornos de salud mental podría fallar por otras razones, por ejemplo, si se piensa en cómo los microbios podrían interactuar con el genoma humano. Incluso si los científicos encontraran la versión terapéutica de un Cadillac dorado de microbiota, señala, "tal vez el cuerpo lo rechace y vuelva a su línea de base debido a que sus propios genes promueven ciertos tipos bacterianos". Hay mucho más para descifrar, dice. "Siempre estoy sorprendida, es muy abierto, es una zona similar a un mundo salvaje y desconocido".

Referencias Bibliográficas

Nota: la bibliografía de la sección «Traducciones» es citada y reproducida tal cual figura en el artículo original.

1. Marshall, J. K. y col. *Gut* 59, 605-611 (2010).
2. Bercik, P. et al. *Gastroenterology* 141, 599-609 (2011).
3. Diaz Heijtz, R. et al. *Proc. Natl Acad. Sci. Estados Unidos* 108, 3047-3052 (2011).
4. Braniste, V. et al. *Sci. Transl. Medicina*. 6, 263ra158 (2014).
5. Yano, J. M. y col. *Cell* 161, 264 - 276 (2015).
6. Ogbonnaya, E. S. y col. *Biol. Psiquiatría* 78, e7-e9(2015).
7. Lee, Y.-K., Menezes, J. S., Umesaki, Y. & Mazmanian, S. K. *Proc. Natl Acad. Sci. Estados Unidos* 108, 4615-4622 (2010).
8. Jašarević, E., Howerton, C. L., Howard, C. D. & Bale, T. L. *Endocrinology* 156, 3265-3276 (2015).