

UNIVERSIDAD DE VALLADOLID – FACULTAD DE MEDICINA
TRABAJO DE FIN DE GRADO DE MEDICINA

Relaciones entre la enfermedad del Alzheimer, la microglía y la microbiota intestinal: un nuevo paradigma en medicina

María Orellana León

Curso 2017/2018



Tutores: M^a Dolores Ganfornina
Diego Sánchez Romero

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción	1
3. Material y métodos	2
4. Enfermedad del Alzheimer.....	2
5. El sistema inmune del SNC en el Alzheimer.....	4
a. La microglía.....	4
b. La microglía y el Alzheimer.....	5
6. La microbiota intestinal.....	8
a. Eje intestino-cerebro.....	9
7. Modulación del sistema inmune sistémico y del SNC.....	11
8. Disfunción de la barrera intestinal.....	13
9. La barrera hematoencefálica.....	14
a. Amiloide en el SNC.....	14
10. Envejecimiento e inflamación.....	15
11. Aplicaciones médicas.....	16
12. Conclusiones.....	17
Bibliografía	

1. RESUMEN

La microbiota intestinal siempre se ha visto como algo ajeno al cuerpo, con el que no guarda relación más allá de algunas acciones digestivas. Sin embargo, recientemente se ha descubierto que su composición varía con la edad y que estos cambios repercuten a nivel sistémico, ya que secretan sustancias muy similares a las endógenas y actúan como tales.

De hecho, se ha relacionado la microbiota con varias enfermedades metabólicas, como la obesidad o la diabetes. Pero lo más interesante es la relación que se ha visto entre su composición y enfermedades neurológicas como el Alzheimer, de las que no se conoce su patogénesis y no se han encontrado hasta el momento tratamientos eficaces.

Por ello parece importante conocer un poco de más de las alteraciones que produce la microbiota intestinal tanto a nivel sistémico como en el sistema nervioso central (SNC) y cómo puede incentivar o prevenir, en cierta medida, algunas patologías.

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad del Alzheimer (EA) es una enfermedad del sistema nervioso caracterizada por la pérdida progresiva de la memoria y por alteraciones en el comportamiento. Su prevalencia está en continuo aumento, afectando cada vez a mayor número de personas, sobre todo a partir de la séptima década de la vida. Sin embargo, aún no se ha conseguido encontrar un tratamiento curativo o que al menos frene la progresión de la enfermedad. Tampoco se dispone de técnicas que permitan un diagnóstico precoz.

Aunque sí se han objetivado cambios en la morfología cerebral, encontrándose por ejemplo depósitos de β -amiloide, no se conoce cuál es el desencadenante o qué mecanismos llevan a la formación de estas placas.

En los últimos años, se ha descubierto la relación que existe entre el Alzheimer y el sistema inmune del SNC, en concreto se ha dado gran importancia a la acción de la microglía. Más recientemente, también se ha comenzado a tener en cuenta la microbiota intestinal y las consecuencias de los cambios en su composición.

Por ello, el objetivo de este trabajo es reunir los últimos hallazgos encontrados sobre EA y tratar de esclarecer su patogénesis, teniendo en cuenta las alteraciones que se producen, no solo en el SNC, sino también a nivel sistémico.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica principalmente en la base de datos PubMed. Se han seleccionado 31 artículos siguiendo los siguientes criterios de inclusión: artículos publicados en los últimos 5 años, inglés.

Las palabras clave usadas han sido: Alzheimer's disease, microglía, microglia phenotypes, microbiota, immune system.

Abreviaturas: 5-HT: 5-hidroxitriptamina; Apo: Apolipoproteína; APP: Proteína precursora de amiloide; BHE: Barrera hematoencefálica; EA: Enfermedad del Alzheimer; FNDC: Factor neurotrófico derivado del cerebro; FN-kB: Factor nuclear kB; GALT: Tejido linfoide asociado al intestino; GF (del inglés "*germen free*): Libre de gérmenes; HPA Hipotalámico-pituitario-adrenal; iNOS: Óxido nítrico sintetasa inducible; LPS: Lipopolisacáridos; NMDA: Receptor N-metil-D-aspartato; NO: Óxido nítrico; SCFAs: Ácidos grasos de cadena corta; SNE: Sistema nervioso entérico; ZO: Zónula occludens;

4. ENFERMEDAD DEL ALZHEIMER

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa, siendo actualmente la forma más común de demencia progresiva, con una prevalencia en Europa del 5,05%, cifra que aumenta de forma exponencial con la edad (1).

Se caracteriza por la pérdida progresiva de memoria, al inicio de forma episódica pero que posteriormente se va agravando. También se acompaña de alteraciones del lenguaje y trastornos motores. Todo ello termina incapacitando al paciente y creando una dependencia total. Además, la mayoría de los enfermos presentan alteraciones del comportamiento, que pueden aparecer desde el principio, y que se manifiestan frecuentemente como apatía, depresión, ansiedad o ideas delirantes.

Inicialmente se creía que el mayor factor de riesgo era la edad, pero actualmente se sabe que es una enfermedad de origen multifactorial y que están implicados tanto factores genéticos como ambientales. De hecho, se ha relacionado con enfermedades como la diabetes o el síndrome metabólico.

Histopatológicamente, el Alzheimer se caracteriza por atrofia cerebral, disminución del número de sinapsis y el depósito de placas de amiloide y ovillos neurofibrilares (2).

Estas placas se producen por un procesamiento anormal de la proteína precursora de amiloide (APP). APP es una proteína de membrana, que se sintetiza en el retículo plasmático y se divide en el aparato de Golgi, donde puede seguir dos caminos (3):

- Por una parte, la α -secretasa da lugar a la formación de APP soluble con efectos neuroprotectores.
- Por otra parte, β y γ -secretasa forman el péptido β -amiloide ($A\beta$) de 39 a 43 aminoácidos. Estos fragmentos son los que tienen un papel importante en el Alzheimer. Se diferencian el fragmento $A\beta_{1-40}$ que es soluble y poco tóxico, y se encuentra de forma normal en el cerebro sano; y el péptido $A\beta_{1-42}$ que es muy tóxico y tiene mayor predisposición a la agregación.

Estos fragmentos atraviesan la membrana neuronal y se depositan en el neuropilo. Ahí se unen formando oligómeros solubles y posteriormente se agregan en fibrillas dando lugar a las placas de amiloide. Las placas maduras son estructuras extraneuronales compuestas por un denso núcleo central de péptido $A\beta$ rodeado de neuritas degeneradas, microglía y astrocitos. Todas estas lesiones presentan una distribución selectiva comenzando en el hipocampo y extendiéndose después a la corteza temporal, parietal y finalmente frontal (2).

Estas lesiones producen una reacción inflamatoria que pone en marcha la activación del sistema inmune en el SNC. En los últimos años se descubrió que la microglía juega un papel importante en la evolución de la enfermedad. Pero no solo tienen una acción beneficiosa, como se podría pensar, sino que alcanzado cierto punto, la acción de estas células se vuelve dañina, incrementando la inflamación y el depósito de amiloide. Por ello, recientes estudios tratan de discernir cual es la acción específica de la microglía en el Alzheimer y que factores la regulan.

5. EL SISTEMA INMUNE DEL SNC EN EL ALZHEIMER

LA MICROGLÍA

Las células que se encargan de la inmunidad cerebral son las células gliales, que se dividen en macroglía (astrocitos y oligodendrocitos) y microglía (4). Esta última es reconocida como los macrófagos residentes del SNC y es uno de los pilares fundamentales de la respuesta inmune innata en el cerebro.

Las células de la microglía están distribuidas de manera muy amplia en todo el SNC y desempeñan distintas funciones como la defensa frente a patógenos, eliminación de desechos neuronales o el mantenimiento de la homeostasis cerebral. También juega un papel importante en la plasticidad neuronal y en la regulación de circuitos neuronales mediante la eliminación de algunos neurotransmisores, contribuyendo así a la protección y remodelamiento de las sinapsis (5).

Sin embargo, no es un grupo homogéneo de células, sino que está formada por subgrupos que se distinguen según su función. Dependiendo de esto, se puede distinguir la microglía activada y aquella en estado de descanso. El paso de una a otra depende de la situación que la rodea y de las señales que recibe de otras células (6,7).

De hecho, se ha visto que ciertos ligandos secretados por las neuronas como, por ejemplo, CX3CL1 la mantienen en un estado de vigilancia y que su ausencia está relacionada con el incremento del fenotipo activado (6).

En condiciones normales, se encuentra en este estado de descanso, y se caracteriza por ser una célula dinámica y móvil, con grandes prolongaciones que interactúan con las neuronas y con otras células del SNC; y aunque estén en continuo movimiento, parece que cada célula tiene un área de trabajo específica (6).

La gran extensión de la microglía le permite comprobar de forma continua el estado del parénquima cerebral. Mediante esta vigilancia puede detectar señales extracelulares y por tanto actuar de la forma necesaria para mantener la homeostasis (8).

La acción que realice tras su activación también depende de la magnitud del daño. Cuando se trata de un daño agudo la respuesta es muy intensa. Sin embargo, en condiciones de daño crónico, como enfermedades neurodegenerativas, estas células pueden llegar a ser neurotóxicas, siendo esta respuesta perjudicial a largo plazo (6).

Por ello dependiendo de las condiciones que la rodeen, y de los ligandos que una, llevará a cabo una acción u otra, pudiéndose diferenciar dos fenotipos de la microglía activada:

- Fenotipo M1 o activación clásica: se produce tras el contacto con lipopolisacáridos (LPS), INF- γ o desechos celulares o bacterianos(6). Esta activación pone en marcha la respuesta inmune y se produce la neutralización del daño mediante la liberación de mediadores pro-inflamatorios como TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12, IL-18, IL-18 (5).
- Fenotipo M2 o activación alternativa: está caracterizado por la secreción de citoquinas antiinflamatorias como IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β y aumento de la capacidad fagocitaria sin aumento en la producción de óxido nítrico (NO).

Estos estados son considerados como extremos de la activación de la microglía, pero en realidad existe un amplio rango de fenotipos durante la inflamación crónica que son indicativos de la respuesta al ambiente local.

LA MICROGLÍA Y EL ALZHEIMER

En el Alzheimer, la microglía también tiene un papel muy importante, ya que tanto los depósitos de A β , con los que entra en contacto, como las señales que recibe de neuronas o de otros tipos celulares, producen su activación, dando lugar a cambios drásticos en su morfología y funcionalidad. Estudios genómicos han mostrado la asociación del Alzheimer con más de 20 loci, muchos de ellos expresados exclusivamente en células de la microglía o en células mieloides, lo que demuestra la relación y la importancia que tienen en esta enfermedad (8).

Los depósitos de A β son reconocidos por la microglía mediante un complejo de receptores formado por CD36, $\alpha\beta$ -integrinas y CD47. Mediante la unión al receptor, se pone en marcha la activación intracelular de cascadas Tirozyn-kinasa y con ello la producción de citoquinas, como por ejemplo IL-1 β (9).

Esta activación se produce sobre todo en la forma M1, y por tanto se secretan citoquinas proinflamatorias. Tras la primera exposición, la microglía puede reparar el tejido dañado o como en este caso eliminar el exceso de A β , pero si el estímulo persiste esta acción se vuelve ineficaz y se produce un estado de inflamación crónico que lleva a la disfunción y pérdida neuronal (10). De hecho, se entra en un círculo vicioso en el que la propia inflamación lleva a un mayor depósito de A β .

En este estado M1, se promueve la fagocitosis de las placas de amiloide y su degradación mediante la secreción de enzimas proteolíticos como el enzima degradadora de insulina, neprilisina, o plasminógeno. Varios estudios han demostrado que estas enzimas disminuyen con la edad, por lo que el aclaramiento de A β puede ser edad dependiente (11).

Pero a largo plazo un exceso de citoquinas proinflamatorias como IL-6, TNF α o factores como M-CSF, promueve la neurotoxicidad (8). Una de las que tiene mayor interés es IL-1 β , cuya concentración está muy elevada en pacientes con Alzheimer, tanto en el cerebro como en el líquido cefalorraquídeo. Esta citoquina puede, bajo ciertas circunstancias, favorecer el depósito de A β mediante la regulación de la expresión y la proteólisis de APP, lo que ayuda a que persista la neuroinflamación (5,12).

Esto lleva a un fracaso tanto en la eliminación de A β , como de otras proteínas tóxicas o desechos neuronales lo que puede contribuir a la inflamación y a la neurodegeneración (8).

Incluso en algunos ensayos con ratones se ha demostrado que al administrar una sola dosis de LPS, se activa el proceso inflamatorio y aumentan mediadores como IL-1 o TNF- α y disminuyen los depósitos de A β . Sin embargo, en el mismo tipo de ratones, la administración continuada de LPS lleva a resultados opuestos, en los que vemos una disminución de dichos mediadores y un aumento de los depósitos, lo que sugiere que la microglía se vuelve ineficiente cuando es estimulada de forma constante (13).

Esta alteración de la función de la microglía afecta tanto a la eliminación de amiloide, como al resto de funciones, entre las que se encuentran la regulación de las sinapsis. Durante el desarrollo la microglía se encarga de eliminar aquellas sinapsis que existen en exceso y esta acción se puede reactivar de forma aberrante con la edad, contribuyendo a esta pérdida de sinapsis. Esto ocurre en el hipocampo en estadios tempranos de la enfermedad y se considera el factor de mayor correlación con el déficit cognitivo (8,10).

En el caso del EA, existen distintos mecanismos que inhiben el cese de la inflamación y que perpetúan la enfermedad. Entre ellos está el feedback positivo entre la inflamación y el procesamiento de APP; ya que la propia liberación de citoquinas proinflamatorias mantiene la producción y acumulación de A β . Y por tanto este aumento de A β , y la mayor cantidad de factores activadores establecen la cronicidad de la inflamación.

Otro factor que puede influir es la activación del enzima óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) debido a las citoquinas proinflamatorias, lo que conlleva un aumento de NO.

Esta molécula puede interactuar en la transcripción de genes, en la respiración mitocondrial o incluso inducir directamente la muerte neuronal. Además, NO puede favorecer la nitrosilación de A β , y con esta forma oxidada aumenta la probabilidad de que se formen las placas (10). Por otra parte, tanto A β como NO pueden dañar los vasos cerebrales causando la angiopatía amiloide cerebral.

Por otra parte, se ha estudiado el papel de distintos receptores, como TREM2 y CD33, aunque es difícil concretar la acción que realizan en las distintas etapas del Alzheimer. En el caso de TREM2, se trata de una proteína de superficie celular expresada por la microglía y cuya estimulación promueve la quimiotaxis, fagocitosis y proliferación de la microglía (14). Sin embargo, existen estudios contradictorios sobre la función beneficiosa o perjudicial de este receptor. Un estudio reciente muestra que la deficiencia de TREM2 mejora el depósito de A β en estadios iniciales pero que lo exacerba en fases tardías mediante la reducción de la expresión de genes expresados en la inflamación y eliminación de A β .

Al igual que ocurre con la microglía, tras la exposición sostenida a un estímulo, los astrocitos pierden su función y se vuelven ineficaces tanto a la hora de eliminar los estímulos nocivos como para la realización del resto de sus funciones, lo que empeora la situación y favorece el déficit cognitivo (5).

Por tanto, dada la relevancia de la microglía y del resto de células del sistema inmune en la patogénesis del Alzheimer, es importante conocer qué mecanismos la regulan para entender el desarrollo de la enfermedad.

Entre los reguladores de la microglía encontramos distintos factores, pero recientemente se ha dado gran valor a la regulación que ejerce la microbiota. Se ha visto que los metabolitos que producen y los cambios que ocurren en ella pueden alterar funciones del organismo, entre ellas funciones cerebrales.

6. LA MICROBIOTA INTESTINAL

El término microbiota intestinal se refiere al conjunto de microorganismos, tanto bacterias como virus, hongos, protozoos o archeobacterias, que forman parte del tracto gastrointestinal. En los humanos, se estima que el 99% está compuesta por bacterias. La forman unos 100 trillones de bacterias y 1000 especies diferentes (15). La proporción de genes bacterianos respecto a los genes del huésped es de 100:1, esta diversidad codifica miles de funciones que confieren un beneficio para el huésped y que han sido seleccionados con la evolución, alcanzándose un estado de simbiosis beneficioso para ambos (16).

A grandes rasgos, la microbiota humana está compuesta por los *phyla* Firmicutes y Bacteroidetes, que constituyen el 51% y 48% respectivamente. El restante 1% está formado por otros *phyla* como Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia (17). Siempre dentro de estas líneas generales, los microorganismos que forman la microbiota intestinal varían mucho de unos individuos a otros, y cada uno posee una combinación específica que constituye una huella microbiana única (18).

Aunque existen evidencias de que la colonización del intestino comienza en el útero a través de la placenta, la mayor parte de microbiota se adquiere de la madre en el nacimiento y se va desarrollando hasta los 2 o 3 años siguientes cuando alcanza gran similitud con la del adulto. A partir de este momento permanecerá relativamente estable a menos que se produzcan grandes perturbaciones (19).

La microbiota está influenciada por múltiples factores desde los propios genes del huésped hasta el ejercicio o el ritmo circadiano; pero sobre todo influye la dieta, encontrándose grandes diferencias entre poblaciones.

Del mismo modo, también se encuentran diferencias según la edad. Al igual que los niños y los ancianos tienen un mayor riesgo de contraer infecciones porque su sistema inmune está inmaduro o debilitado, la microbiota en estas edades es más vulnerable a factores externos, que pueden provocar alteraciones en su composición y esto tener repercusión a nivel sistémica (16).

Generalmente aquello que perturba la microbiota son los antibióticos, infecciones, la colonización por microbios comensales o enfermedades no infecciosas que alteran la función del tracto gastrointestinal. Dependiendo de la magnitud de la alteración, la microbiota es

capaz de recuperarse y regresar a su composición original o, por el contrario, cuando se producen de forma repetida pueden transformar su fisiología (16).

La diversidad de la microbiota y su funcionalidad están relacionadas positivamente con la salud del huésped; por el contrario, la disminución de esta diversidad caracteriza a la microbiota de múltiples enfermedades.

Los organismos de la microbiota constituyen un sistema complejo y cambios en su población pueden afectar a la función de la barrera intestinal, incrementando el número de sustancias tóxicas que son segregadas y disminuyendo las beneficiosas, lo cual puede producir enfermedades tanto entéricas como sistémicas (20).

Hasta hace unos años, se pensaba que la microbiota solo estaba implicada en funciones específicas del colon, pero también realiza una gran acción como barrera funcional, que impide el paso de bacterias patógenas desde el tracto gastrointestinal; está implicada en la maduración y modulación de la respuesta inmune, la regulación de las funciones neuromusculares del intestino y funciones metabólicas. En recientes estudios, además, se ha ligado con la elaboración de moléculas que pueden afectar a la función cerebral (17,19).

EJE INTESTINO-CEREBRO (“GUT-BRAIN AXIS”)

Estas acciones en el SNC se han demostrado en ensayos realizados con ratones libres de gérmenes (GF, del inglés “*germen free*”). Lo cual significa que existen distintas vías por las que el cerebro y el intestino se comunican, es lo que se ha denominado el eje intestino-cerebro.

Esta comunicación se caracteriza por ser bidireccional, de forma que no solo el SNC regula las funciones del intestino (motilidad, secreción glandular, tono del músculo liso), sino que también sucede al contrario, la actividad del intestino puede influir en las funciones cerebrales.

En el intestino se encuentra el sistema nervioso entérico (SNE), formado por el plexo mientérico y el plexo submucoso que son capaces de integrar la información que reciben y realizar acciones por si mismos (20). Además, también está regulado por el SNC; una de las principales conexiones con éste es el nervio vago. Pero no es la única forma de comunicación entre ambos sistemas, también se realiza mediante el eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA), o mediante la liberación de neurotransmisores.

Teniendo en cuenta que la microbiota puede afectar a la función cerebral mediante distintas comunicaciones, es evidente que enfermedades neurológicas pueden cursar con disbiosis intestinal, como se ha visto en el autismo o la depresión (asociado con el aumento de estrés por hiperactivación del eje HPA).

Nervio vago

El nervio vago está formado en un 80% por fibras sensitivas que transportan la información de distintos órganos. Regula funciones vitales como el ritmo cardíaco o la motilidad intestinal, pero además puede transmitir señales de la inmunidad periférica al SNC.

Muchos de los efectos de la microbiota son dependientes del nervio vago, como se ha comprobado en varios estudios con ratones vagotomizados. Por ejemplo, en tratamientos crónicos con *Lactobacillus* se observaron cambios en la expresión del receptor GABA en el SNC, que van acompañados de una reducción del estrés y la ansiedad, pero esto solo ocurre cuando el nervio se encuentra intacto (15).

Eje hipotalámico-pituitario-adrenal

El eje HPA es una cascada de señales hormonales que puede ser regulada por la microbiota. Esto se ha demostrado mediante estudios en los que la respuesta al estrés difiere entre ratones GF y aquellos con microbiota normal. Mostrando los primeros una respuesta exagerada al estrés del SNC, con aumento de CRH, ACTH y corticosterona (16).

La liberación de cortisol como resultado de la activación del eje HPA, puede llevar a la liberación de citoquinas y por tanto a la activación de la microglía (21).

Péptidos neuromoduladores

Las bacterias intestinales pueden producir péptidos neuroactivos como GABA, noradrenalina, dopamina o 5-HT.

- 5-HT es producida en un 95% por las células enterocromafines del intestino, y parece ser especialmente susceptible a los cambios de la microbiota (18). Los ratones GF mostraron un 60% menos de los niveles normales (22).
- El factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDC) es un regulador de la plasticidad sináptica y la neurogénesis en el cerebro y realiza un papel importante en la memoria y el aprendizaje. En ratones GF su expresión está significativamente disminuida (18).

- GABA: las bacterias Gram positivo como Lactobacillus metabolizan el glutamato transformándolas en GABA, que es el neurotransmisor inhibitor más abundante en el SNC. La disfunción del sistema gabaérgico puede llevar a una disminución de la función cognitiva. En estudios postmortem de pacientes con Alzheimer se encontraron niveles disminuidos de GABA en la corteza frontal, parietal y temporal (22).
- El glutamato es el principal neurotransmisor excitatorio del SNC, y su receptor es NMDA, el cual participa en la regulación de la supervivencia de las neuronas, desarrollo de dendritas y axones y en la plasticidad sináptica. Se ha observado relación entre el receptor NMDA y la microbiota ya que la expresión hipocampal de este receptor está significativamente disminuida en los ratones GF (22).

7. MODULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE DENTRO Y FUERA DEL SNC

Se ha demostrado que la microbiota tiene influencia en el sistema inmune y que regula el desarrollo neuronal y la mielinización. Diversos estudios con ratones muestran que, alterando la composición de la microbiota, ciertas patologías neurodegenerativas se pueden ver afectadas. Esto puede producirse de forma directa mediante la modulación del desarrollo de la microglía o mediante la alteración de la inmunidad periférica (23).

Tejido linfoide asociado al intestino (GALT)

El sistema GALT protege al organismo frente a la entrada de microbios patógenos. En la lámina propia hay varias líneas de células inmunes como células T, macrófagos o células dendríticas que pueden atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) y afectar a las neuronas y células gliales. (24).

Los cambios que se produzcan a este nivel tendrán repercusión tanto en el SNC como en el intestino. Pudiendo producir o agravar enfermedades a nivel sistémico e incluso enfermedades neuronales como AD.

Mediadores metabólicos

La microbiota produce grandes cantidades de ácidos grasos de cadena corta (SCFAs), principalmente butirato, acetato y propionato, que tienen distintas acciones metabólicas. La cantidad de SCFAs producido depende de la composición de la microbiota y de la proporción de hidratos de carbono complejos en la dieta (16).

Algunas de sus funciones son:

- El acetato contribuye a la síntesis de colesterol en el hígado.
- El propionato es utilizado en la gluconeogénesis e inhibe la producción de colesterol.
- El butirato es utilizado por las células gliales como fuente de energía. Y además tiene una acción antiinflamatoria mediante la inhibición de la acetilasa de las histonas (24).

Los SCFAs también tiene un importante papel en el desarrollo de la microglía. Se ha demostrado que los ratones GF muestran alteraciones a distintos niveles:

- Disminución de los genes relacionados con el reconocimiento de patógenos, la activación celular y la maduración.
- Aumento de la expresión de genes relacionados con la supervivencia celular y la proliferación.
- A nivel de marcadores de superficie, aumento de su expresión.
- Alteración de la morfología: mayor número de dendritas, aumento del tamaño celular

De hecho, en un estudio se comparó la respuesta de la microglía en ratones colonizados y no colonizados a diferentes situaciones como la inyección de LPS o de virus. La respuesta inmune en estos últimos fue mucho menor en todas las situaciones, además de estar acompañada de cambios en la morfología de la microglía y disminución de citoquinas (25).

Esto refleja que, en ausencia de microorganismos en el intestino, la respuesta inmune innata de la microglía disminuye gravemente y que, por tanto, la microbiota del huésped promueve la resistencia microglial frente a bacterias y virus.

Lo mismo ocurre al someter a ratones con microbiota normal a tratamientos con antibióticos disminuyéndose así la diversidad bacteriana y produciendo cambios morfológicos y funcionales en la microglía. En el mismo estudio, para tratar de restaurar los daños producidos por los antibióticos, se administraron SCFAs en la dieta y con esto se observó una mejoría de la morfología de la microglía y de los receptores que expresaba en su membrana.

Todos estos datos muestran que la microbiota juega un papel fundamental en la regulación y desarrollo de la microglía, tanto en su maduración en etapas tempranas de la vida como posteriormente en la edad adulta, donde también es modulada. En concreto, SCFAs son de vital importancia para el mantenimiento de su función.

Contradictoriamente, se observó que no existe expresión del receptor FFRA2 (encargado de reconocer SCFAs) en la microglía, encontrándose solo en las células periféricas. Por lo que se debe seguir investigando cómo realizan su acción a nivel del SNC (25).

El paso de moléculas al SNC también se produce a través de la BHE cuya permeabilidad se ve incrementada en ciertas condiciones, como por ejemplo aquellas que permiten el paso de moléculas a través de la barrera intestinal.

8. DISFUNCIÓN DE LA BARRERA INTESTINAL

Como ya se ha dicho, la barrera intestinal juega un importante papel en la salud. Está formada por una hilera de células que recubren todo el tracto gastrointestinal y cuyas uniones se denominan zónula occludens (ZO); las principales proteínas que la forman son claudina y ocludina. Cuando se producen problemas en estas uniones aumenta la permeabilidad de la barrera, es lo que se denomina “*leaky gut*” (26), y está en relación con distintos procesos como el incremento de la inflamación sistémica, la neuroinflamación, la disfunción de regiones específicas del cerebro como el hipocampo, y el desarrollo de la resistencia a insulina (patología que suele acompañar al EA) (27).

La destrucción del equilibrio de la microbiota está relacionada directamente con el aumento de la permeabilidad de la barrera intestinal. Como consecuencia, el paso de los metabolitos producidos por las bacterias se ve facilitado. Es lo que ocurre, por ejemplo, con los péptidos neuromoduladores comentados anteriormente, y por ello las variaciones en su producción provocarían un aumento de su concentración a nivel sistémico y cerebral.

Otro ejemplo es el de los LPS, que en condiciones normales son bloqueados por la barrera. Sin embargo, cuando ésta se altera pueden pasar a la circulación sistémica. Los LPS son uno de los mayores componentes de la pared celular de las bacterias Gram negativas, y son capaces de inducir una seria reacción inflamatoria si pasan a la sangre (26). Se ha comprobado que los niveles de LPS se encuentran 3 veces más elevados en pacientes con AD que en sujetos normales (20). Relacionándose también con un aumento de los niveles de A β a nivel del hipocampo.

Por otra parte, al aumentar la permeabilidad de la barrera intestinal, también aumentarán los niveles de citoquinas proinflamatorias. En un estudio realizado en pacientes con Alzheimer frente a controles, con la finalidad de comprobar la relación entre distintas especies de bacterias y los niveles de citoquinas, se llegó a los siguientes resultados: Los pacientes EA tenían mayor proporción de E.coli y menor de E.rectale que los controles. Y esto estaba asociado a un aumento de citoquinas pro-inflamatorias como IL-1B, IL-6 y disminución de las anti-inflamatorias como IL-10 (17).

Este estado de inflamación crónica creado por los LPS y por otras endotoxinas bacterianas produce un aumento de la permeabilidad de la BHE.

9. BARRERA HEMATOENCEFÁLICA

Hace unos años se aseguraba que la BHE era impermeable al paso de cualquier sustancia, sin embargo, recientes estudios han comprobado que muchas moléculas pueden atravesarla pudiendo poner en peligro la salud del SNC. Cambios en la composición de la microbiota intestinal pueden gradualmente destruir la capacidad del cerebro para protegerse de sustancias tóxicas (20).

La disbiosis intestinal puede producir un aumento de la permeabilidad de la BHE, debido a ese aumento de inflamación sistémica ya comentado.

Este aumento de permeabilidad está asociado a la reducción de la expresión de las proteínas claudina y ocludina. Es interesante que en estudios realizados con ratones GF, al recolonizar su intestino, aumentaba la expresión de estas proteínas, recuperando así la impermeabilidad de la BHE. Lo mismo ocurría al recolonizar el intestino con un solo tipo de bacteria que concretamente producía SCFA. Lo que sugiere que el efecto protector de butirato se debe en parte a su habilidad para estabilizar la integridad de la membrana (23).

AMILOIDE EN EL SNC

Al igual que ocurre con los LPS, también aumenta el paso de amiloide. Algunas de las bacterias que producen fibras de amiloide son *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium tuberculosis* o *Staphylococcus aureus*.

En el Alzheimer el paso al SNC se ve facilitado por el mal funcionamiento de algunos transportadores como ApoE o ApoJ, que regulan el receptor RAGE, implicado en el paso de

amiloide a través de la BHE; y otros como LRP-1, que se encargan de su aclaramiento (17,27).

Generalmente el amiloide es soluble, aunque pueden polimerizar con el tiempo formando agregados fibrilares. Cuando se acumula a nivel sistémico y cerebral, se produce un aumento de las especies reactivas de oxígeno y de la activación de la señal del factor nuclear kB (FN-kB). Esto puede producir la disminución de la expresión del receptor TREM2 en la microglía, ya visto previamente (17,27). En condiciones normales, inhibe la liberación de citoquinas (mediante la regulación del receptor TLR), y promueve la fagocitosis. Por ello, la pérdida de su función lleva a la disminución de la fagocitosis de distintos sustratos como neuronas en apoptosis, bacterias o lípidos (28). Y provocará una mayor facilidad para la acumulación del péptido A β ₄₂. Además, una vez formados los péptidos de amiloide se auto perpetúan.

Este proceso se hace aún más evidente con la edad, cuando tanto la barrera intestinal como la BHE se vuelven más permeables a ciertas moléculas.

10. ENVEJECIMIENTO E INFLAMACIÓN

En muchas ocasiones se hace referencia al concepto “inflammaging”, refiriéndose a un estado crónico de inflamación sistémica de bajo grado asociado a la edad. Se ha demostrado que el envejecimiento se acompaña de un incremento de entre 2-4 veces los niveles de proteínas de fase aguda y citoquinas proinflamatorias, como IL-6 y TNF- α (29). También, se produce un empeoramiento de la permeabilidad intestinal; de hecho, se ha observado disminución de ZO-1, ocludina y un incremento de claudina-2 (29).

Por otra parte, la composición de la microbiota cambia mucho con la edad disminuyendo su abundancia y diversidad (18).

El AD está muy relacionado con la edad, afectado a un 1% de la población comprendida entre 65-69 años y sin embargo afecta a un 30-40% de los mayores de 65 años (21).

Una posibilidad es que la inflamación sistémica de bajo grado constituya un común denominador en las enfermedades neurodegenerativas y vasculares, dando lugar a la disfunción de la BHE y por tanto, aumento de los estímulos inflamatorios al cerebro (21).

11. APLICACIONES MÉDICAS

Se han realizado diferentes estudios para conocer las diferencias entre la microbiota de los pacientes con EA respecto a controles. Se ha observado que la de los pacientes con Alzheimer es mucho menos rica, existiendo menor diversidad de microorganismos. Esto mismo ocurría en pacientes con obesidad, diabetes o Parkinson, patologías en las que la microbiota tiene un papel importante (30).

Además, se observó que esta alteración de la diversidad se acompañaba de cambios en el metabolismo, motilidad de las bacterias, y vías de transducción de señales, lo que sugiere que puede tener implicación en el desarrollo de enfermedades, sobre todo mediante la activación del sistema inmune y la inflamación sistémica.

Se han observado diferencias en la composición de la microbiota, mostrando los pacientes con EA (17,30):

- Aumento del *phylum* Bacteroidetes, que incluye bacterias Gram negativas, cuyo principal componente de membrana es LPS, relacionados de forma directa con la inflamación a nivel sistémico.
- Disminución de Actinobacteria, principalmente a cargo de *Bifidobacterium*. En otros estudios se ha comprobado que los suplementos de *Bifidobacterium* provocan la disminución de LPS a nivel intestinal.

Por lo que se sugiere que modificando la composición de la microbiota intestinal se podría interferir en alguna medida en la enfermedad. En un ensayo clínico con 60 pacientes con AD, de forma aleatoria se les administró un probiótico. Aquellos que lo recibieron mostraron mejoría de la memoria y el aprendizaje medido mediante “*minimal state examination*”, además de mejoría de la resistencia a la insulina (17).

Otro ensayo demostró que modulando la microbiota se puede retrasar la progresión de EA. Se realizó en ratones, cambiando la composición de su microbiota y con ello interfiriendo en la concentración de citoquinas proinflamatorias y de hormonas, lo que redujo la cantidad de A β y mejoró la función cognitiva (31).

Estos estudios demuestran por una parte, la acción moduladora de la microbiota en el Alzheimer, independientemente de los mecanismos que sigan. Pero sobre todo señalan la acción que puede tener la toma de probióticos a la hora de modificar el curso de la enfermedad. Y aunque no tenga una acción curativa, sí que parece enlentecer su progresión.

12. CONCLUSIONES

1. La microglía es una de las células con mayor importancia en EA. Puede realizar distintas acciones según el ambiente que la rodee; activándose cuando se altera la homeostasis del SNC. Existen dos estados de activación: M1 y M2, considerados extremos entre los cuales puede haber un gradiente de diferentes fenotipos. En condiciones normales, su función es fagocitar los depósitos de amiloide. Aunque en ciertas formas de inflamación crónica, se produce una pérdida de su funcionalidad; dando lugar a un estado en el que no solo no elimina el exceso de β -amiloide, sino que favorece su producción.

2. El uso de antibióticos o la dieta pueden alterar la composición de la microbiota, teniendo esto consecuencias a nivel sistémico. El intestino y el cerebro se comunican de forma bidireccional, y ciertas acciones del intestino pueden tener repercusión en el SNC. Esta comunicación se produce a distintos niveles, mediante el nervio vago, o el eje HPA, y es esencial para ciertas funciones del SNC, como el correcto funcionamiento de la microglía. Las bacterias que forman la microbiota producen neurotransmisores, LPS y otras moléculas que en condiciones de aumento de la permeabilidad del intestino (leaky gut), pasan a la circulación.

3. Lo mismo ocurre cuando hay alteraciones en la BHE, también se produce el paso de estos mediadores al SNC. Por ejemplo, el paso de LPS o de amiloide aumenta los niveles de citoquinas proinflamatorias, lo que se traduce en la activación de la microglía de forma crónica, como ocurre en el EA.

Del mismo modo, las bacterias también secretan productos beneficiosos para el organismo, como los SCFAs, que tiene una acción antiinflamatoria, siendo esenciales tanto en la maduración inicial de la microglía como posteriormente en la regulación de su función.

4. Todo esto tiene aplicación posterior en el tratamiento de algunas enfermedades. En el caso del EA, se ha visto que el aumento de ciertas bacterias (como el phylum Bacteroidetes), se relaciona con el aumento a nivel sistémico de citoquinas proinflamatorias; por lo que su regulación podría resultar beneficiosa. De hecho, se ha comprobado mediante ensayos clínicos, que la administración de ciertos probióticos mejora la capacidad cognitiva de pacientes con Alzheimer.

5. Aunque el EA es una enfermedad multifactorial, y todavía queda mucho por descubrir sobre su etiología, parece interesante seguir investigando en esta línea para conocer hasta qué punto las alteraciones en la composición de la microbiota favorecen su desarrollo y por lo tanto, en qué medidas pueden los probióticos ayudar al menos a retrasar su progresión.

BIBLIOGRAFÍA

1. Niu H, Álvarez-Álvarez I, Guillén-Grima F, Aguinaga-Ontoso I. Prevalence and incidence of Alzheimer's disease in Europe: A meta-analysis. *Neurologia*. octubre de 2017;32(8):523-32.
2. Farreras R. *Medicina Interna*. 17ª edición. Elsevier; 2012.
3. Kumar K, Kumar A, Keegan RM, Deshmukh R. Recent advances in the neurobiology and neuropharmacology of Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother*. 20 de diciembre de 2017;98:297-307.
4. Wyss-Coray T, Rogers J. Inflammation in Alzheimer disease-a brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harb Perspect Med*. enero de 2012;2(1):a006346.
5. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. abril de 2015;14(4):388-405.
6. Kabba JA, Xu Y, Christian H, Ruan W, Chenai K, Xiang Y, et al. Microglia: Housekeeper of the Central Nervous System. *Cell Mol Neurobiol*. 22 de mayo de 2017;
7. Tam WY, Ma CHE. Bipolar/rod-shaped microglia are proliferating microglia with distinct M1/M2 phenotypes. *Sci Rep*. 2 de diciembre de 2014;4:7279.
8. Salter MW, Stevens B. Microglia emerge as central players in brain disease. *Nat Med*. 8 de septiembre de 2017;23(9):1018-27.
9. Bamberger ME, Harris ME, McDonald DR, Husemann J, Landreth GE. A cell surface receptor complex for fibrillar beta-amyloid mediates microglial activation. *J Neurosci*. 1 de abril de 2003;23(7):2665-74.
10. Ramirez AI, de Hoz R, Salobarra-Garcia E, Salazar JJ, Rojas B, Ajoy D, et al. The Role of Microglia in Retinal Neurodegeneration: Alzheimer's Disease, Parkinson, and Glaucoma. *Front Aging Neurosci*. 2017;9:214.

11. Shen Z, Li X, Bao X, Wang R. Microglia-targeted stem cell therapies for Alzheimer disease: A preclinical data review. *J Neurosci Res.* diciembre de 2017;95(12):2420-9.
12. Guillot-Sestier M-V, Town T. Let's make microglia great again in neurodegenerative disorders. *J Neural Transm (Vienna).* 12 de octubre de 2017;
13. Jevtic S, Sengar AS, Salter MW, McLaurin J. The role of the immune system in Alzheimer disease: Etiology and treatment. *Ageing Res Rev.* noviembre de 2017;40:84-94.
14. Hansen DV, Hanson JE, Sheng M. Microglia in Alzheimer's disease. *J Cell Biol.* 1 de diciembre de 2017;
15. Tse JKY. Gut Microbiota, Nitric Oxide, and Microglia as Prerequisites for Neurodegenerative Disorders. *ACS Chem Neurosci.* 19 de julio de 2017;8(7):1438-47.
16. Cox LM, Weiner HL. Microbiota Signaling Pathways that Influence Neurologic Disease. *Neurotherapeutics.* enero de 2018;15(1):135-45.
17. Mancuso C, Santangelo R. Alzheimer's disease and gut microbiota modifications: The long way between preclinical studies and clinical evidence. *Pharmacol Res.* marzo de 2018;129:329-36.
18. Calvani R, Picca A, Lo Monaco MR, Landi F, Bernabei R, Marzetti E. Of Microbes and Minds: A Narrative Review on the Second Brain Aging. *Front Med (Lausanne)* [Internet]. 2 de marzo de 2018;5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5840854/>
19. Quigley EMM. Microbiota-Brain-Gut Axis and Neurodegenerative Diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 17 de octubre de 2017;17(12):94.
20. Zhu X, Han Y, Du J, Liu R, Jin K, Yi W. Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. *Oncotarget.* 8 de agosto de 2017;8(32):53829-38.
21. Alkasir R, Li J, Li X, Jin M, Zhu B. Human gut microbiota: the links with dementia development. *Protein Cell.* febrero de 2017;8(2):90-102.

22. Hu X, Wang T, Jin F. Alzheimer's disease and gut microbiota. *Sci China Life Sci.* octubre de 2016;59(10):1006-23.
23. Main BS, Minter MR. Main2017-Microbial-SI_REV. *Front Neurosci.* 2017;11:151.
24. Kim N, Yun M, Oh YJ, Choi H-J. Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. *J Microbiol.* marzo de 2018;56(3):172-82.
25. Erny D, Hrabě de Angelis AL, Jaitin D, Wieghofer P, Staszewski O, David E, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci.* julio de 2015;18(7):965-77.
26. Zhao Y, Jaber V, Lukiw WJ. Secretory Products of the Human GI Tract Microbiome and Their Potential Impact on Alzheimer's Disease (AD): Detection of Lipopolysaccharide (LPS) in AD Hippocampus. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:318.
27. Pistollato F, Sumalla Cano S, Elio I, Masias Vergara M, Giampieri F, Battino M. Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutr Rev.* octubre de 2016;74(10):624-34.
28. Balducci C, Forloni G. Novel targets in Alzheimer's disease: A special focus on microglia. *Pharmacol Res.* 31 de enero de 2018;
29. Di Sabatino A, Lenti MV, Cammalleri L, Corazza GR, Pilotto A. Frailty and the gut. *Dig Liver Dis.* 16 de marzo de 2018;
30. Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, Harding SJ, Merluzzi AP, Johnson SC, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Scientific Reports.* 19 de octubre de 2017;7(1):13537.
31. Bonfili L, Cekarini V, Berardi S, Scarpona S, Suchodolski JS, Nasuti C, et al. Microbiota modulation counteracts Alzheimer's disease progression influencing neuronal proteolysis and gut hormones plasma levels. *Sci Rep.* 25 de mayo de 2017;7(1):2426.