



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**PROBIÓTICOS COMO NUEVA ALTERNATIVA EN
LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA
ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

Autor: Alicia Olivares Romera

Fecha: 13 de Junio de 2019

Tutor: Alba Garcimartín Álvarez

ÍNDICE

Resumen y palabras clave	
Abstract and key words	
1. Introducción	3
1.1. Enfermedad de Alzheimer	4
1.1.1. Etiopatogenia de la EA	4
1.1.1.1. <i>Hipótesis amiloide</i>	4
1.1.1.2. <i>Hipótesis de la proteína Tau</i>	5
1.1.1.3. <i>Hipótesis colinérgica</i>	5
1.1.1.4. <i>Otras hipótesis</i>	6
1.1.2. Tratamiento actual de la EA	6
1.2. Microbiota intestinal	7
1.3. Eje microbiota-intestino-cerebro	7
2. Objetivos	8
3. Metodología	8
4. Resultados y Discusión	8
4.1. Papel de la microbiota intestinal en la patogénesis de la EA	8
4.1.1. Mecanismos neuronales	9
4.1.1.1. <i>GABA</i>	9
4.1.1.2. <i>Serotonina</i>	9
4.1.1.3. <i>Otros neurotransmisores</i>	10
4.1.2. Mecanismos metabólicos	10
4.1.3. Mecanismos inmunitarios	11
4.2. Uso de probióticos en la prevención y tratamiento de la EA	12
5. Conclusiones	15
6. Bibliografía	15

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más frecuente de demencia caracterizada por una disminución progresiva de la función cognitiva asociada a la formación de placas β -amiloides y ovillos neurofibrilares. Su elevada prevalencia mundial, así como la elevada carga socioeconómica que conlleva, hace que sea considerada un importante problema de salud pública, cuya prevención supone un reto en la actualidad. Además, la etiología exacta de la EA se desconoce, lo que dificulta tanto su prevención, como el desarrollo de un tratamiento farmacológico eficaz para detener su progreso. El objetivo de este trabajo consiste en evaluar la implicación del eje microbiota-intestino-cerebro en la EA; y la eficacia del tratamiento con probióticos para mejorar la capacidad cognitiva. Evidencias recientes han demostrado que la microbiota intestinal juega un papel fundamental en el desarrollo de la EA, a través de la alteración del eje microbiota-intestino-cerebro que permite la comunicación bidireccional entre estos dos últimos órganos. De esta forma, una disbiosis a nivel intestinal, con el consecuente aumento de la permeabilidad intestinal y la activación de diferentes vías del eje, va a conducir a una inflamación sistémica y neuroinflamación, que promueve en última instancia, la neurodegeneración característica de la EA. La revisión bibliográfica en la que se evalúa el efecto de los probióticos sobre la función cognitiva, tanto de ancianos sanos como de enfermos de EA, demuestra que los probióticos son eficaces y que se posicionan como una nueva opción preventiva y terapéutica de la EA.

Palabras clave: Probióticos, enfermedad de Alzheimer, eje microbiota-intestino-cerebro, disbiosis, neurodegeneración.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is the most frequent cause of dementia characterized by a progressive decrease in cognitive function associated with the formation of plaques β -amyloids and neurofibrillary tangles. Its high prevalence worldwide, as well as the high socioeconomic burden that this pathology entails, makes it considered an important public health problem. Moreover, its exact aetiology is unknown, which hinders both its prevention and the development of an effective pharmacological treatment to halt the progress of AD. The aim of this work is to evaluate the implication of the microbiota-gut-brain axis in AD; and the efficacy of probiotic treatment to improve cognitive capacity. Recent evidence has shown that the intestinal microbiota plays a fundamental role in the development of AD through the alteration of the microbiota-gut-brain axis that allows bidirectional communication between these last two organs. In this way, dysbiosis, with the consequent increase in intestinal permeability and the activation of different pathways of the axis, will lead to systemic inflammation and neuroinflammation, which ultimately promotes the neurodegeneration characteristic of AD. The literature review, evaluating the effect of probiotics on cognitive function of both healthy elderly people and people with AD, shows that probiotics are effective and they are positioned as a new preventive and therapeutic option for AD.

Key words: Probiotics, Alzheimer's disease, gut-brain axis, dysbiosis, neurodegeneration.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo crónico de inicio insidioso y empeoramiento progresivo, que constituye la causa más común de demencia entre la población anciana, y la primera causa de hospitalización o ingreso en residencias de ancianos (1). Se caracteriza por un deterioro cognitivo que se manifiesta con la pérdida irreversible de las capacidades intelectuales, incluyendo la memoria, el pensamiento, la orientación, la comprensión, el cálculo, el aprendizaje, el lenguaje, el juicio o la capacidad de expresarse y comunicarse adecuadamente. Estas alteraciones van acompañadas de trastornos funcionales, psicológicos y del comportamiento, que impiden que el paciente sea capaz de llevar una vida familiar, laboral y social autónoma. Todo ello conduce a un estado de dependencia creciente que llega a ser total (2,3).

Cada año se diagnostican en España unos 40.000 nuevos casos de EA. La Sociedad Española de Neurología (SEN) estima que hay unas 800.000 personas con EA, aunque es probable que la cifra real sea más alta. Como consecuencia de la dificultad para distinguir los síntomas iniciales de los olvidos cotidianos, la EA es una patología infradiagnosticada. De hecho, se estima que el 30-40% de los casos estarían sin diagnosticar, llegando incluso al 80% si nos centramos en las etapas iniciales de la enfermedad (4). La prevalencia y la incidencia de esta enfermedad se incrementan a partir de los 65 años de forma exponencial, afectando al 5% de la población mayor de 60 años, al 20% de los mayores de 80 y al 30% de los mayores de 90. Además, debido al envejecimiento progresivo de la población y el incremento de la esperanza de vida, se espera que el número de casos aumente considerablemente en las próximas décadas (4).

La EA, además de suponer un gran problema social, es una de las patologías que generan un mayor gasto social. En España, el coste por paciente con EA se estima que se encuentra entre 27.000 y 37.000 € anuales. Y, en todo el mundo, supone un gasto superior a 800.000 millones de euros. Además, un reciente estudio sitúa a la EA y a otras demencias como la segunda causa específica de muerte en España, mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) afirma que la demencia es el grupo de enfermedades que más han aumentado en mortalidad en los últimos años (4).

La elevada prevalencia a nivel mundial, así como la elevada carga socioeconómica asociada a la EA, hace que sea considerada un importante problema de salud. El gran reto sanitario en la actualidad se basa en encontrar medidas destinadas a prevenir la enfermedad, o conseguir reducir su progreso. Pese a los grandes avances científicos de los últimos años, los tratamientos disponibles para la EA se relacionan únicamente con la mejora de la calidad de vida de los pacientes. Sin embargo, no existe ninguna alternativa terapéutica que haya demostrado ser eficaz para detener, o al menos ralentizar, la rápida progresión de la enfermedad (3). La falta de un tratamiento curativo, unido al difícil diagnóstico de la EA en etapas tempranas, pone de manifiesto la importancia de encontrar estrategias de prevención eficaces. Entre los objetivos de estas potenciales terapias preventivas destaca el control de los factores de riesgo de demencia conocidos: vasculares, ambientales (como el abandono de hábitos tóxicos como el tabaquismo), y estilos de vida poco saludables (especialmente aquellos relativos a patrones de actividad física o de alimentación)(4). Lamentablemente, la modificación de factores de riesgo no siempre evita la aparición de la EA. Por ello, en los últimos años, la intervención en las fases preclínicas de la enfermedad está cobrando importancia (3). En resumen, la prevención de la EA y la búsqueda de tratamientos que modifiquen la evolución de la patología son dos líneas de investigación muy activas en la

actualidad; aunque quizás el paso previo necesario para poder enfrentarse a ambos retos es terminar de comprender la etiopatogenia de la enfermedad.

1.1.1 Etiopatogenia de la EA

Como se ha comentado, la etiología exacta de la EA no se conoce todavía, si bien los expertos coinciden en que la enfermedad aparece como resultado de la combinación de múltiples factores de riesgo. Estos factores se clasifican en: modificables (factores ambientales, estilo de vida, etc.), y no modificables (edad, sexo, historia familiar y genética) (5,6). Las diferentes hipótesis sobre el origen de la EA se basan en la existencia de dos rasgos neuropatológicos fundamentales: las placas seniles o amiloides, depósitos extraneuronales formados por la acumulación del péptido β Amiloide (β A); y los ovillos neurofibrilares, depósitos intraneuronales de proteína Tau (7). Las hipótesis propuestas más importantes se resumen en los siguientes puntos:

1.1.1.1 Hipótesis amiloide

Ha sido la más comúnmente aceptada desde principios de los años 90 (8). Esta hipótesis defiende que el proceso neurodegenerativo vendría dado como consecuencia de la agregación y depósito de péptidos β A a nivel cerebral. Estos péptidos se originan a partir de la proteína precursora del amiloide (APP), una proteína de membrana que se encuentra en diferentes tipos de células, entre ellas las neuronas. En una situación fisiológica, la APP sería catabolizada por la α -secretasa produciendo el fragmento sAPP α . Este fragmento está implicado en la regulación de la excitabilidad neural, la mejora de la plasticidad sináptica y el aumento de la resistencia neuronal al estrés oxidativo y metabólico. Sin embargo, en una situación patológica, la APP es metabolizada a través de la vía amiloidogénica, en la que la enzima BACE-1 (β -secretasa) fragmenta la APP por el extremo N-terminal y la γ -secretasa lo hace por el extremo C-terminal, obteniéndose los fragmentos sAPP β y β A_{40/42} (9). De las dos formas de péptido β A, β A₄₂ es más propenso a la agregación que β A₄₀, y, por tanto, más neurotóxico. β A₄₂ se oligomeriza y se acumula formando placas seniles a nivel cerebral, ejerciendo así su efecto tóxico en las sinapsis neuronales (10) (**Figura 1**).

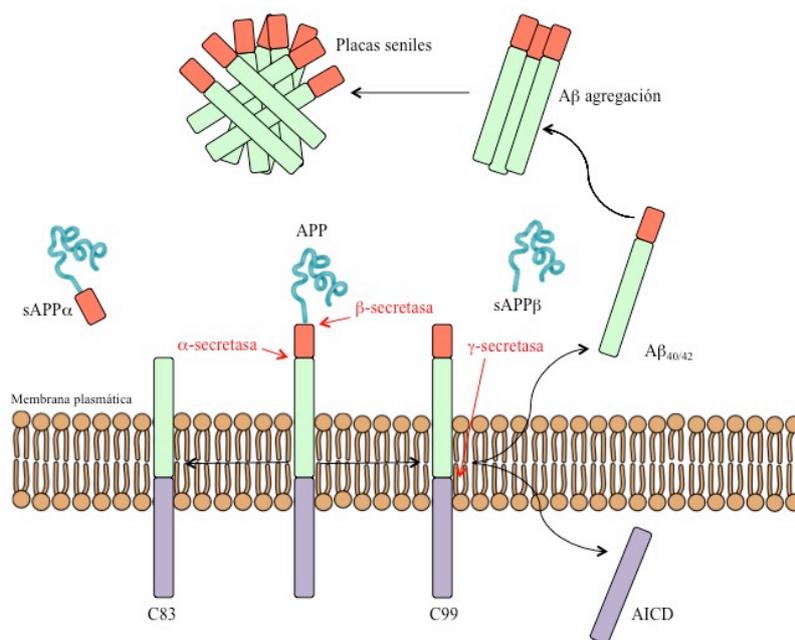


Figura 1. Formación de placas seniles según la hipótesis amiloide. Elaboración personal.

Recientemente, han empezado a surgir muchas dudas y controversias sobre la hipótesis de la cascada amiloide, debido al aumento de estudios documentados que no muestran ninguna correlación entre los depósitos βA y las manifestaciones clínicas de la EA. Hay fuertes hallazgos que sugieren que la deposición amiloide es un fenómeno ligado al envejecimiento, y no al inicio de la EA, lo cual contradice la hipótesis mencionada (11). En efecto, muchos pacientes con demencia no tienen depósitos $A\beta$ en el cerebro; mientras, por otro lado, se ha observado que los cerebros de los pacientes ancianos sin demencia presentan tantas placas seniles como los de los pacientes con demencia (12). Al parecer, en el proceso de envejecimiento se produce una disminución en la respuesta inmune, que produce tanto neuroinflamación, como un descenso en la eliminación fisiológica de βA (13).

1.1.1.2 Hipótesis de la proteína Tau

Esta hipótesis centra el origen de la patología en el otro marcador fisiopatológico de la enfermedad, la formación de ovillos neurofibrilares por hiperfosforilación de la proteína Tau. Esta proteína está implicada en la estabilización de los microtúbulos a nivel neuronal y está mediada por un sistema de fosforilación-defosforilación. Si la proteína Tau no está lo suficientemente defosforilada no puede unirse adecuadamente a los microtúbulos y polimeriza formando estos ovillos neurofibrilares, los cuales se acumulan a nivel neuronal y sináptico y causan la apoptosis de estas células y múltiples deficiencias de neurotransmisores, con el consiguiente daño cognitivo (7) (**Figura 2**).

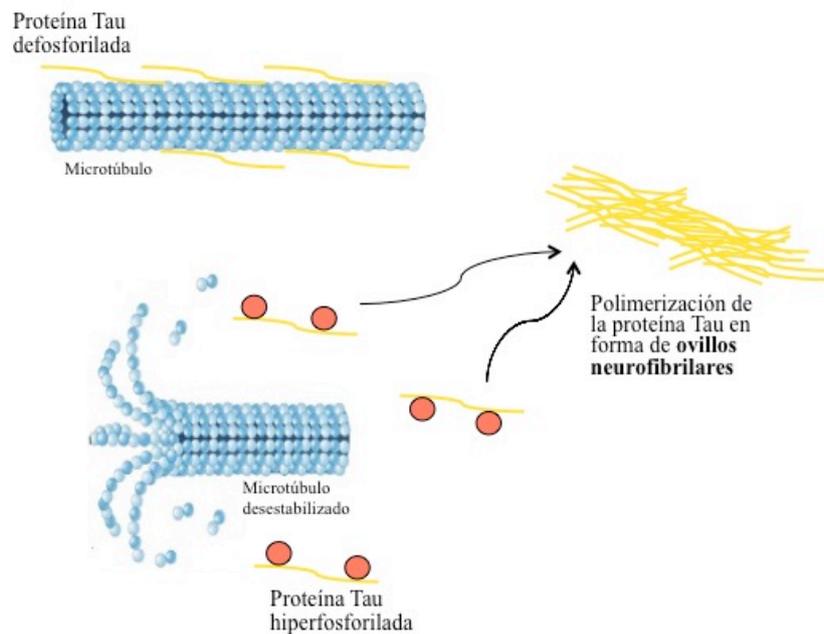


Figura 2. Formación de placas seniles según la hipótesis amiloide. Elaboración personal.

1.1.1.3 Hipótesis colinérgica

Los pacientes con EA presentan deficiencias en la transmisión colinérgica, serotoninérgica, glutamatérgica, dopaminérgica y noradrenérgica. Especialmente, el sistema colinérgico es el que está más estrechamente ligado a la patología y a la evolución de la misma, razón por la cual se postuló esta hipótesis (7). Además, se ha demostrado que la

reducción de la enzima que sintetiza la acetilcolina (colina acetiltransferasa, ChAT) se correlaciona con el grado de demencia (7). El déficit de acetilcolina (ACh), consecuencia de las lesiones neuronales características de la EA, provoca con el tiempo la aparición de demencia característica de la EA, y la instauración de la demencia patológica (3). Tal y como se comentará más adelante, tres de los cuatro fármacos que se usan actualmente en el tratamiento de la EA actúan aumentando la transmisión colinérgica, poniendo de manifiesto la importancia de esta hipótesis.

1.1.1.4 Otras hipótesis

En los últimos años, se han propuesto otras hipótesis: a) la hipótesis del estrés oxidativo, que relaciona la etiología de la EA con el incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres, que tienen efectos deletéreos sobre los componentes celulares; b) la hipótesis excitotóxica, que da respuesta a la elevación patológica del glutamato, un neurotransmisor excitatorio del Sistema Nervioso Central (SNC), que induce una serie de reacciones intraneuronales de carácter tóxico causando la muerte celular; y c) la hipótesis neuroinflamatoria, que explica los altos niveles de citoquinas proinflamatorias a nivel cerebral (7).

Todas estas hipótesis se hayan muy ligadas entre sí. Es más, seguramente sea la contribución de todas estas hipótesis, o incluso de alguna aún no conocida, lo que determine la fisiopatología de la EA. En un primer momento se aceptó que el evento inicial fuera la formación de placas seniles, esto conllevaría la aparición de una respuesta inflamatoria, que interfiere en la sinapsis y altera el metabolismo energético y el de la glucosa. También induciría estrés oxidativo, produciendo una alteración en la homeostasis del calcio, lo que provoca una hiperactivación de proteínas kinasas y una inactivación de fosfatasas. En consecuencia, se hiperfosforila la proteína tau, provocando la formación de los ovillos neurofibrilares, los cuales se acumulan a nivel neuronal y sináptico y causan la apoptosis de estas células y un déficit de neurotransmisores (como la ACh). Toda esta cascada de procesos concluiría con la instauración de la demencia característica de la EA (3). Sin embargo, las investigaciones más recientes han demostrado que los procesos neuroinflamatorios pueden iniciarse muchos años antes de que aparezcan los depósitos de β A en los pacientes con EA (14), resultando imposible que sean consecuencia de los mismos, tal y como se había aceptado. Por ello, la hipótesis de la inflamación se hace cada vez más significativa, y a partir de ella se han postulado nuevos protagonistas como el eje microbiota-intestino-cerebro del que se hablará al final de la introducción (8).

1.1.2 Tratamiento actual de la EA

Actualmente, existen dos grupos de fármacos utilizados en esta patología: los inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChEI) y los antagonistas del receptor del ácido N-metil-D-aspartico (NMDA).

Los AChEI incluyen el donepezilo, la rivastigmina y la galantamina y se utilizan para reducir la tasa de degradación de la acetilcolina (ACh), aumentando con ello su acción en las sinapsis colinérgicas, que, como hemos mencionado con anterioridad, es deficitaria en esta enfermedad. La regulación de la transmisión colinérgica ha demostrado ser eficaz en el incremento de la capacidad cognitiva de estos pacientes, aunque desgraciadamente se trata de un efecto discreto y que disminuye con el tiempo (15).

Por otro lado, el único fármaco aprobado perteneciente al grupo de los antagonistas del receptor glutamatérgico NMDA es la memantina (15), que al actuar bloqueando este receptor, reduce la excitotoxicidad glutamatérgica. Pese a todo ello, se ha demostrado que ninguno de estos fármacos aprobados detienen el progreso de la enfermedad y, además, su eficacia disminuye con el tiempo (3).

1.2 Microbiota intestinal

La microbiota es el conjunto de microorganismos que conviven en simbiosis en diferentes partes del organismo humano (16). El tracto gastrointestinal (GI) alberga la mayor parte de la población de microorganismos, debido a su gran superficie (250-400 m²). Se estima que el número de microorganismos que colonizan el tracto gastrointestinal es superior a 10¹⁴. Inicialmente se pensaba que la cantidad de bacterias en el organismo era diez veces superior a la de células humanas. En el caso de contenido genómico la cifra ascendía a cien veces superior el de bacterias (microbioma) que el genoma humano (17). Sin embargo, una estimación reciente sugiere que la proporción de células humanas:células bacterianas está en realidad más cerca de 1:1 (18).

La composición de la microbiota no es estática, sino que varía a lo largo de la vida del individuo, y se ve afectada por la edad, la dieta, el estilo de vida o el consumo de antibióticos, entre otros factores. En los primeros años, la microbiota se ve condicionada por el tipo de parto (natural o cesárea), y de lactancia (artificial o materna). En cualquier caso, en esta etapa predominan las bacterias del filo *Actinobacterias* (género *Bifidobacterias*). En la edad adulta, diferentes factores contribuyen a su sustitución por bacterias del filo *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (16). El perfil microbiológico de cada persona es diferente, pero la abundancia relativa y la distribución de estos filos bacterianos a lo largo del intestino es similar en individuos sanos de edades similares.

La importancia de la microbiota recae en las múltiples funciones que desempeña a nivel del sistema inmunitario, metabólico y hormonal, muchas aún desconocidas. La gran importancia de la microbiota en la homeostasis del organismo ha hecho que en muchas publicaciones científicas se le considere un órgano independiente. Su relación con el proceso fisiopatológico de la EA parece ir ligado al papel que ejerce la microbiota sobre la conexión entre el intestino y el cerebro, que se engloba en el denominado eje microbiota-intestino-cerebro (16).

1.3 Eje microbiota-intestino-cerebro

Pese a que no está claro cómo influye la microbiota intestinal en el desarrollo de la EA, hay pruebas sustanciales que respaldan la existencia de un eje microbiota-intestino-cerebro que permite la comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro a través de varias vías que incluyen mecanismos neuronales, a través de la activación del nervio vago; endocrinos, mediante la producción de metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta que pueden actuar como neurotransmisores u hormonas; e inmunitarios, mediante la producción de citoquinas. En este contexto, las alteraciones en las comunidades microbianas intestinales, lo que se conoce como “disbiosis”, en pacientes con EA pueden dar lugar a los cambios fisiopatológicos en el cerebro característicos de esta patología. (16,19)

Se ha demostrado que los depósitos de β A pueden surgir como una respuesta antimicrobiana y que la infiltración a nivel cerebral de microorganismos, así como de sus productos (por ejemplo, LPS) pueden ser el factor iniciador de la neuroinflamación (8).

Por todo ello, existe un interés creciente por evaluar el papel de las bacterias intestinales en la patogénesis de la EA y en la inducción de cambios neuroinflamatorios. El estudio de la microbiota intestinal en la progresión o el mantenimiento de la EA puede conducir al desarrollo de nuevos tratamientos a través de la restauración de la composición bacteriana intestinal mediante probióticos (19). Los probióticos son microorganismos vivos similares a los que componen la microbiota intestinal en individuos sanos (por ejemplo, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rahnosus*, *L. reuteri*, *L. fermentum*) que se adicionan en cantidad suficiente a un alimento con el fin de modificar la composición de esta microbiota (20).

2. OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión bibliográfica que permita:

- a) Evaluar el papel de la microbiota intestinal en la neurodegeneración característica de la EA.
- b) Determinar si la modificación de la composición de la microbiota intestinal mediante la suplementación con probióticos es útil en la prevención y en el tratamiento de la EA.

3. METODOLOGÍA

Para poder abordar los objetivos del trabajo se ha realizado una búsqueda en las siguientes bases bibliográficas de datos: PubMed, ScienceDirect, ResearchGate y Google Scholar.

En todas las bases de datos se han utilizado las siguientes palabras clave: "Alzheimer's disease" y en asociación con "probiotics", "dysbiosis", "gut-brain axis" o "gut microbiota". Entre los criterios de búsqueda en estas bases de datos se ha procurado que las publicaciones sean recientes, preferiblemente de los últimos diez años.

Por último, ha de mencionarse la utilización del programa informático Mendeley para la elaboración de la bibliografía y de una guía para la adecuada citación de las referencias bibliográficas según la metodología Vancouver, así como diccionarios diversos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Papel de la microbiota intestinal en la patogénesis de la EA

Evaluar el papel de la microbiota intestinal en la patogénesis de la EA requiere conocer las numerosas vías sobre las que esta actúa para posteriormente comprender como una alteración de su composición puede desajustarlas y dar lugar a la neurodegeneración característica de la enfermedad.

Para ello, a continuación se explicarán detalladamente los mecanismos de las vías que constituyen el eje microbiota-intestino-cerebro (neuronales, metabólicos e inmunitarios), así como su relación con el deterioro cognitivo propio de la EA.

4.1.1 Mecanismos neuronales

La comunicación neuronal entre el intestino y el cerebro se lleva a cabo principalmente dentro del Sistema Nervioso Entérico (SNE) en el tracto gastrointestinal. El SNE es una división principal del Sistema Nervioso Autónomo (SNA) y regula la motilidad intestinal, la secreción mucosa y el flujo sanguíneo (21). El SNE interactúa con el SNA y el SNC a través de neurotransmisores (adrenalina, noradrenalina y acetilcolina), así como de neuronas sensoriales y motoras, todas las cuales transmiten señales desde el intestino hasta el cerebro.

El nervio vago es uno de los actores principales en la conexión del SNE con el cerebro y el intestino. Es el nervio craneal más largo (abarca desde el tronco encefálico hasta el tracto intestinal) y tiene una distribución muy amplia por lo que regula varias funciones vitales incluyendo la constricción bronquial, la frecuencia cardíaca y la motilidad intestinal. Tiene un papel a la vez eferente y aferente. Aproximadamente el 80% de las fibras vagales son sensoriales, transmitiendo información sobre el estado de los órganos del cuerpo al SNC (22). Muchos efectos conocidos de la microbiota intestinal o probióticos dependen de la actividad del nervio vago.

Los neurotransmisores y compuestos neuroactivos regulados por la microbiota intestinal incluyen GABA, serotonina, catecolaminas y acetilcolina.

4.1.1.1 GABA

El ácido γ -aminobutírico (GABA) es un importante neurotransmisor inhibitorio del SNC y las disfunciones del sistema GABAérgico contribuyen al deterioro cognitivo y de la memoria. Las especies *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, que componen la microbiota intestinal normal, convierten el glutamato monosódico en GABA. El aumento de GABA a nivel intestinal da lugar a un incremento de la biodisponibilidad de este mismo neurotransmisor en el SNC, regulando la señalización inhibitoria a través de las neuronas GABAérgicas (23) (**Tabla 1**). Por tanto, una disbiosis que afecte a alguno de estos dos componentes microbianos perjudicará la producción de GABA intestinal, con la consiguiente disminución de la biodisponibilidad de GABA en el SNC. Esto va a conducir a un desajuste en la proporción GABA/glutamato, lo que hace que el SNC sea propenso a la excitotoxicidad y, con ello, al deterioro cognitivo (24).

4.1.1.2 Serotonina

La serotonina, o 5-HT, es un elemento clave en el eje microbiota-intestino-cerebro, actuando como neurotransmisor tanto en el SNC como en el SNE, ejerciendo un importante papel en la regulación de la función cerebral y del comportamiento. Aproximadamente, el 95% de la serotonina se sintetiza en los órganos periféricos, principalmente en el epitelio gastrointestinal. Dentro de este epitelio, las células responsables de esta síntesis en mayor proporción (90%) son las células enterocromafinas. El principal sustrato para la síntesis de la serotonina es el aminoácido esencial triptófano, que se encuentra en las proteínas alimentarias. Se ha demostrado que *Bifidobacterium infantis* aumenta tanto la biodisponibilidad de triptófano en plasma como a nivel cerebral (22). Por otro lado, también la microbiota intestinal representada por *Escherichia coli* y *Enterococcus* juega un papel

importante en la regulación de la producción de serotonina, afectando a la disponibilidad de este neurotransmisor tanto en el SNE como en el SNC (24) (**Tabla 1**).

4.1.1.3 Otros neurotransmisores

Además del GABA y la serotonina, la microbiota comensal produce otros compuestos neuroactivos como la noradrenalina (NA), la dopamina (DA) o la ACh, entre otros: *Echerichia*, *Bacillus*, *Saccharomyces* spp. pueden producir NA (25); *Echerichia*, *Bacillus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Serratia*, DA (25) ; y *Lactobacillus* y *Bacillus*, ACh (25) (22) (**Tabla 1**).

Tabla 1. Asociación de la microbiota intestinal con los neurotransmisores o compuestos neuroactivos sobre los que actúan. Elaboración personal.

Microbiota intestinal	Compuesto neuroactivo
<i>Lactobacillus</i> y <i>Bifidobacterium</i>	GABA
<i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Escherichia</i> y <i>Enterococcus</i>	Serotonina (5-HT)
<i>Bacillus</i> , <i>Echerichia</i> , <i>Saccharomyces</i>	Noradrenalina (NA)
<i>Bacillus</i> , <i>Echerichia</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Serratia</i>	Dopamina (DA)
<i>Lactobacillus</i> y <i>Bacillus</i>	Acetilcolina (ACh)

Sin embargo, también existen mecanismos independientes del nervio vago en la comunicación intestino-cerebro, como detallaremos a continuación.

4.1.2 Mecanismos metabólicos

Las bacterias comensales también intervienen en el eje microbiota-intestino-cerebro a través de la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como el acetato, el propionato y el butirato. Este último destaca sobre los anteriores, ya que tiene efectos neuroprotectores. Además de ser un importante sustrato energético, el butirato actúa como un modulador epigenético inhibiendo histonas desacetilasas (HDAC). La acetilación de las histonas (proteínas involucradas en la compactación del ADN en unidades estructurales que reciben el nombre de nucleosomas) conlleva la apertura conformacional de esta estructura, dejando en libertad a diferentes factores de transcripción para unirse al ADN y, con ello, inducir la transcripción de determinados genes. Al inhibir el butirato las HDAC, este proceso está favorecido, por lo que su biodisponibilidad va a ser determinante en la regulación de la síntesis de numerosas proteínas, especialmente de aquellas que intervienen en procesos inflamatorios (como los linfocitos T reguladores) (8)(25). Además, se ha demostrado en estudios en ratones con daño cerebral traumático que el butirato es capaz de reducir las deficiencias neuronales, el edema cerebral y de restablecer la barrera hematoencefálica (26).

Los AGCC también estimulan la secreción de hormonas peptídicas intestinales, como el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) y el péptido YY (PYY) desde las células enteroendocrinas (EEC) que expresan receptores de ácidos grasos libres (27). Los péptidos intestinales secretados pueden actuar en el hipotálamo, un centro cerebral primario responsable de la regulación de la ingesta de alimentos y de la homeostasis energética (25).

Con la edad, la producción de AGCC se va reduciendo significativamente (28), por lo que en la EA, una patología sin duda asociada al envejecimiento, implica un desajuste de todas las vías que se acaban de mencionar. Destaca la vía del butirato, que al producirse en menor cantidad, los procesos inflamatorios se verán favorecidos.

4.1.3 Mecanismos inmunitarios

Las bacterias intestinales pueden liberar cantidades significativas de péptidos amiloides, lipopolisacárido (LPS) y otros subproductos microbianos en su entorno. La absorción de estas moléculas, así como la infiltración de las propias bacterias facilitada por el aumento de la permeabilidad de las barreras biológicas, afecta a las vías de señalización relacionadas con la producción de citoquinas proinflamatorias, algunas de las cuales están relacionadas con la patogénesis de la EA (24).

Las elevada producción de citoquinas proinflamatorias activan el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, que coordina las respuestas adaptativas del organismo a factores estresantes de cualquier tipo. Esta activación conlleva la secreción del factor liberador de corticotropina (CRF) del hipotálamo, que estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) de la hipófisis que, a su vez, conduce a la liberación de cortisol de las glándulas adrenales. El cortisol es una de las principales hormonas del estrés que afecta a muchos órganos humanos, incluyendo el cerebro (29). De hecho, una revisión muy reciente explica en detalle la relación entre los niveles altos de cortisol y el riesgo de EA (30).

Muchas especies bacterianas producen y liberan continuamente péptidos amiloides con los que forman biopelículas protectoras y adherentes. Estos amiloides microbianos son biológicamente similares a los cerebrales en cuanto su estructura y sus características fisicoquímicas, aunque no comparten las mismas secuencias de aminoácidos con los humanos β_{A1-42} . Sin embargo, son reconocidos por el mismo sistema de receptores que β_{A42} , y también activan fuertemente la producción de citoquinas proinflamatorias, particularmente IL-17 e IL-22 (31). Además, los amiloides bacterianos pueden contribuir a la acumulación intracerebral de $A\beta$ característica de la EA (32).

Por otro lado, el principal componente de la membrana externa de las bacterias gram negativas es el LPS, que es capaz de desencadenar una inflamación sistémica y la liberación de citoquinas proinflamatorias después de su translocación desde el intestino a la circulación sistémica. Dicha respuesta inflamatoria puede contribuir o exacerbar la patología de la EA por los mecanismos proinflamatorios ya descritos (19).

Tanto la acumulación de péptidos amiloides bacterianos y de LPS a nivel sistémico conlleva la liberación de citoquinas proinflamatorias y la disminución de citoquinas antiinflamatorias (24). En este contexto, se ha observado que los pacientes con EA presentan este desajuste en los niveles de citoquinas proinflamatorias/citoquinas antiinflamatorias. Así, en el estudio llevado a cabo por Cattaneo et al. se obtuvieron en sangre periférica de pacientes con deterioro cognitivo niveles muy altos de citoquinas pro-inflamatorias (IL-6, CXCL2, NLRP3 e IL-1 β); y bajos de la citoquina antiinflamatoria IL-10. Por otro lado, la cantidad de *Escherichia/Shigella* se ha correlacionado positivamente con los niveles de citoquinas proinflamatorias en estos pacientes y la de *Eubacterium rectale* con los niveles de IL-10 (33) (**Figura 3**).

La importancia de la relación entre EA y disbiosis con aumento de especies gram negativas también se pone de manifiesto en el estudio de Vogt et al. Estos autores, observaron diferencias significativas entre la microbiota de personas sanas y la de pacientes con EA, con predominio del filo *Bacteroidetes*, compuesto por bacterias gram negativas, en los pacientes con EA (19). Cabe destacar que, en una situación fisiológica, el ser humano está expuesto a cantidades extremadamente grandes de LPS y péptidos amiloides, producidos continuamente por la microbiota intestinal. Sin embargo, esta exposición aumenta especialmente durante el envejecimiento, ya que en esta etapa existe una mayor permeabilidad intestinal así como de la barrera hematoencefálica (8).

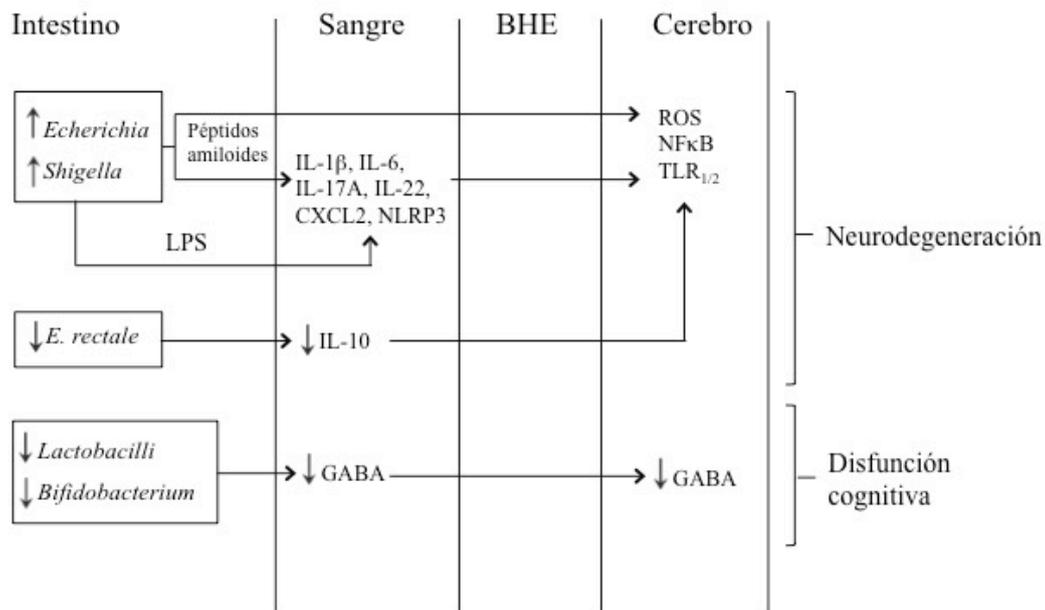


Figura 3. Alteraciones de la microbiota que conllevan la colonización de bacterias en sangre y cerebro de sujetos con EA. Modificado de Mancuso et al. (34).

En resumen, se ha demostrado que los pacientes con EA presentan una microbiota intestinal diferente (aumento de la proporción de bacterias gram negativas) a la de las personas sanas. Además, la prevalencia de esta enfermedad aumenta con la edad, lo que es directamente proporcional al grado de permeabilidad de las diferentes barreras del organismo y a la disminución de la producción de AGCC. Por ello, en estos pacientes existe tanto un desajuste en los niveles de neurotransmisores como una mayor infiltración a nivel cerebral de microorganismos, así como de sus productos. Todo ello conlleva la interrupción de la transmisión nerviosa y la liberación de citoquinas proinflamatorias que supone un desajuste inmunitario a nivel cerebral, lo que puede contribuir a una neurodegeneración que culmina con la instauración de demencia y EA.

4.2 Uso de probióticos en la prevención y tratamiento de la EA

La fuerte asociación entre la EA y la microbiota intestinal sugiere que la corrección de la disbiosis característica de esta patología conllevaría el reajuste del eje microbiota-intestino-cerebro. Por tanto, la utilización de probióticos podría ser eficaz para la prevención y el tratamiento de la EA. Para comprobarlo, se ha realizado una revisión bibliográfica de ensayos clínicos sobre el efecto de los probióticos en la función cognitiva de pacientes ancianos sanos y enfermos (deterioro cognitivo leve o EA ya instaurada) (**Tabla 2**).

En el año 2014, Chung et al. investigaron sobre los efectos de la administración de *Lactobacillus helveticus* sobre la función cognitiva de ancianos sanos. Para ello, utilizaron diferentes tests validados que mostraron una mejoría cognitiva en los individuos que recibían el probiótico frente a los que recibían el placebo (35).

Otro estudio realizado en el año 2018 sobre ancianos sanos también aportó resultados similares. En él, Inoue et al. comprobaron que la administración de una combinación de distintas especies de *Bifidobacterium* durante 12 semanas mejoraban tanto la función cognitiva como el índice de masa corporal en estos pacientes (36).

Además de estos ensayos clínicos en individuos sanos, se han estudiado los efectos de determinadas cepas probióticas en pacientes con demencia y EA. Así, en el año 2016, Akbari et al. observaron que la administración de la combinación de tres especies de *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*) y *Bifidobacterium bifidum* en pacientes con EA mejoraron significativamente los resultados de un test denominado “Mini-Mental State Examination” y disminuyeron los marcadores de inflamación y de resistencia a la insulina en contraposición a los pacientes que recibieron placebo (37).

Por otro lado, y más recientemente, se han realizado otros dos ensayos clínicos en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL), y ambos concluyeron que el probiótico promovía una mejoría cognitiva: Kobayashi et al., en el año 2018, estudiaron los efectos de la suplementación oral de *Bifidobacterium breve* A1 (38) y Hwang et al., en 2019, los de *Lactobacillus plantarum* C29. Este último evaluó la función cognitiva relacionada con la memoria y la atención y obtuvo que la administración de probiótico mejoró la función cognitiva especialmente relacionada con la atención (39).

Tabla 2. Revisión de ensayos clínicos sobre el efecto de los probióticos en la función cognitiva. Elaboración personal.

Referencias	Cepa probiótica	Formulación	Diseño del estudio	Duración del estudio	Número de sujetos	Tipo de sujetos	Mejora cognitiva
Chung et al. (2014)	<i>Lactobacillus helveticus</i> IDCC3801	Leche fermentada probiótica	Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo	12 semanas	36	Ancianos sanos (60-75 años)	Sí
Akbari et al. (2016)	Tres especies de <i>Lactobacillus</i> (<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i>) y <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Leche probiótica	Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo	12 semanas	60	Pacientes EA	Sí
Inoue et al. (2018)	<i>Bifidobacterium longum</i> BB536, <i>B. infantis</i> M-63, <i>B. breve</i> M-16V y <i>B. breve</i> B-3	Sobres de polvo liofilizado probiótico (administración con agua)	Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo	12 semanas	38	Ancianos sanos (66-78 años)	Sí
Kobayashi et al. (2018)	<i>Bifidobacterium breve</i> A1	Cápsulas de polvo liofilizado probiótico	Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo	24 semanas	27	Pacientes con DCL	Sí
Hwang et al. (2019)	<i>Lactobacillus plantarum</i> C29	Cápsulas de polvo de soja fermentada y polvo liofilizado probiótico	Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo	12 semanas	100	Pacientes con DCL	Sí

Todos los ensayos clínicos revisados demostraron una mejora de la función cognitiva, lo que apoya la idea de que los probióticos generan un impacto positivo en la patología de la EA. Esta mejora cognitiva se observó en solo doce semanas en la mayoría de los estudios y

parece que la formulación y las cepas probióticas utilizadas no son determinantes en la resolución final de estos ensayos, si bien en todos los casos se emplean especies de los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*.

Estos estudios sugieren que la microbiota gastrointestinal tiene un papel importante en la comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro, que se produce a través de vías directas e indirectas complejas, que incluyen la señalización neuronal, metabólica e inmunitaria. El desequilibrio en la microbiota intestinal (disbiosis) está asociado con la neuroinflamación y neurodegeneración de la EA. Por lo tanto, la administración de probióticos es útil a la hora de restaurar o corregir este desequilibrio, y, podrían utilizarse en un futuro como medida preventiva o terapéutica en la EA (**Figura 4**).

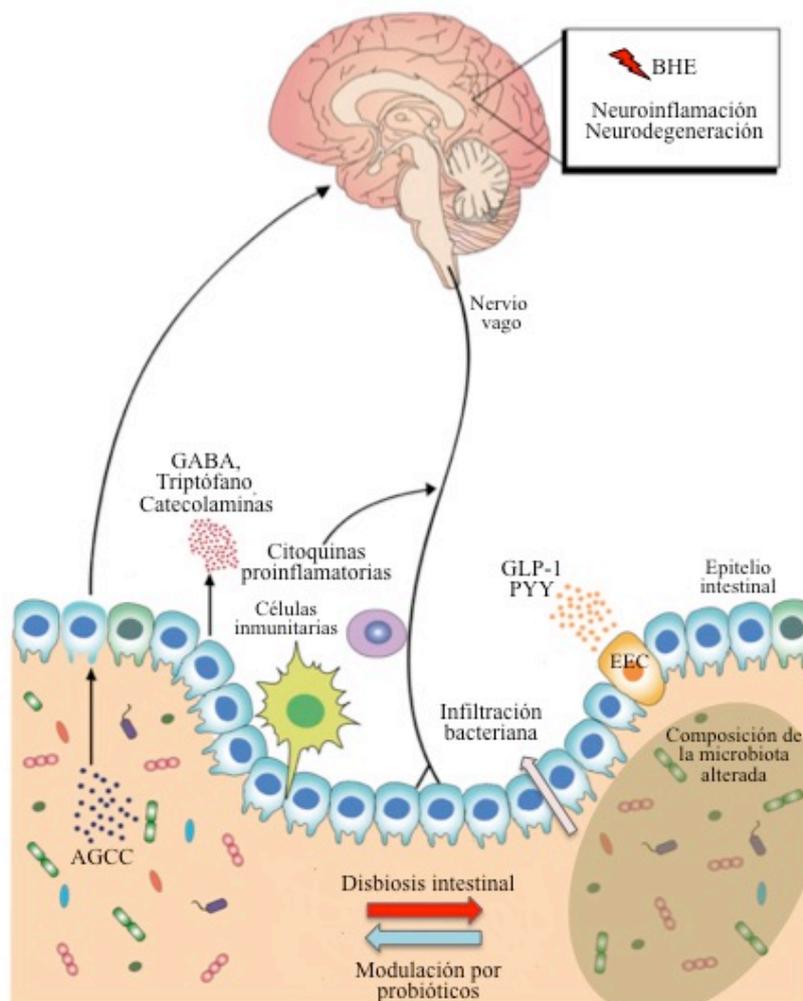


Figura 4. Modulación del eje microbiota-intestino-cerebro mediante probióticos. Modificado de Foster et al. (40).

Las investigaciones sobre la eficacia de los probióticos en la EA son alentadoras; sin embargo, aún queda mucho por conocer: qué cepas probióticas son útiles, qué dosis usar, cuánto tiempo debe durar el tratamiento, cuándo se ha de iniciar para que sea eficaz, etc.

En cualquier caso, las evidencias que apoyan la relación entre la microbiota y el SNC a través del eje microbiota-intestino-cerebro abren un campo de investigación con muchas

posibilidades en el que los probióticos constituyen una herramienta terapéutica fundamental. Las respuestas a los interrogantes vendrán de la mano de más ensayos clínicos que aborden el papel de la microbiota en la EA.

5. CONCLUSIONES

I. La microbiota intestinal tiene un papel fundamental en la etiopatogenia de la EA, lo que se fundamenta en la existencia de un eje que permite la comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro a través de varias vías que incluyen mecanismos neuronales, metabólicos e inmunitarios. La disbiosis característica de los pacientes con EA conlleva el desajuste de este eje microbiota-intestino-cerebro y, desencadena el proceso de neurodegeneración propio de la patología.

II. La administración de probióticos es útil a la hora de restaurar o corregir este desequilibrio, y, por tanto, podrían utilizarse en un futuro como medida preventiva o terapéutica en la EA. Sin embargo, aún se necesitan estudios adicionales para aclarar el mecanismo de regulación de la función cerebral por la microbiota intestinal, así como para determinar el tipo y posología de probiótico, y los posibles pacientes que podrían beneficiarse en mayor medida de esta terapia.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Gaugler J, James B, Johnson T, Scholz K, Weuve J. 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement* [Internet]. 2016;12(4):459–509. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2015.02.003>
2. Van Giau V, Wu SY, Jamerlan A, An SSA, Kim SY, Hulme J. Gut microbiota and their neuroinflammatory implications in alzheimer's disease. *Nutrients*. 2018;10(11):1–18.
3. Folch J, Ettcheto M, Petrov D, Abad S, Pedrós I, Marin M, et al. Una revisión de los avances en la terapéutica de la enfermedad de Alzheimer: estrategia frente a la proteína β -amiloide. *Neurologia*. 2018;33(1):35–46.
4. EL MUNDO. La mortalidad por Alzheimer y otras demencias se ha duplicado en los últimos 15 años | Salud. *Salud* [Internet]. 2018; Available from: <https://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/salud/2018/09/21/5ba4c90ce2704ed6938b46f1.html>
5. Castello MA, Soriano S. On the origin of Alzheimer's disease. Trials and tribulations of the amyloid hypothesis. *Ageing Res Rev* [Internet]. 2014;13(1):10–2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2013.10.001>
6. Drachman DA. The amyloid hypothesis, time to move on: Amyloid is the downstream result, not cause, of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement* [Internet]. 2014;10(3):372–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2013.11.003>
7. Agis-Torres A, Sollhuber M, Fernandez M, Sanchez-Montero JM. Multi-Target-Directed Ligands and other Therapeutic Strategies in the Search of a Real Solution for Alzheimer's Disease. *Curr Neuropharmacol*. 2014;12(1):2–36.

8. Sochocka M, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, Kurpas D, Brzozowska E, Lesze J. The gut microbiome alterations and inflammation-driven pathogenesis of alzheimer's disease—a critical review. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2018;56(3):1841–51. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85048972725&doi=10.1007%2Fs12035-018-1188-4&partnerID=40&md5=67de293de28960900e9e5a26619f4d04%0Ahttp://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L622718327%0Ahttp://dx.doi.org/10>.
9. Haass C, Kaether C, Thinakaran G, Sisodia S. Trafficking and proteolytic processing of APP. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(5):1–26.
10. Armstrong R. A critical analysis of the 'amyloid cascade hypothesis.' *Folia Neuropathol* [Internet]. 2014;3(3):211–25. Available from: <http://www.termedia.pl/doi/10.5114/fn.2014.45562>
11. Kametani F, Hasegawa M. Reconsideration of amyloid hypothesis and tau hypothesis in Alzheimer's disease. *Front Neurosci*. 2018;12(JAN).
12. Tse KH, Herrup K. Re-imagining Alzheimer's disease – the diminishing importance of amyloid and a glimpse of what lies ahead. *J Neurochem*. 2017;143(4):432–44.
13. Penke B, Bogár F, Fl L. β -amyloid and the pathomechanisms of Alzheimer's disease: A comprehensive view. *Molecules*. 2017;22(10).
14. Steardo L, Scuderi C. Targeting neuroinflammation in Alzheimer's disease. 2016;199–208.
15. Mendiola-Precoma J, Berumen LC, Padilla K, Garcia-Alcocer G. Therapies for Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int*. 2016;2016(2).
16. Gómez Eguílaz M, Ramón Trapero JL, Pérez Martínez L, Blanco JR. El eje microbiota-intestino-cerebro y sus grandes proyecciones. *Rev Neurol*. 2019;68(03):111.
17. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* [Internet]. 2017;474(11):1823–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28512250%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5433529>
18. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol* [Internet]. 2016;14(8):e1002533. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27541692%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4991899>
19. Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, Harding SJ, Merluzzi AP, Johnson SC, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-13601-y>
20. Welcome MO. The Gut Microbiota-brain Signaling: Behavioral Abnormalities of The Gut Microbiota Underlie Alzheimer's Disease Development and Progression. Dictatorship or Bidirectional Relationship? *J Res Med Dent Sci*. 2018;6(5):246–63.
21. Browning KN, Verheijden S, Boeckxstaens GE. The Vagus Nerve in Appetite Regulation, Mood, and Intestinal Inflammation. *Gastroenterology*. 2017;152(4):730–44.
22. Dinan TG, Cryan JF. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease.

- Gastroenterol Clin North Am [Internet]. 2017;46(1):77–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.007>
23. Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil.* 2011;23(3):255–65.
 24. de J.R. De-Paula V, Forlenza AS, Forlenza O V. Relevance of gutmicrobiota in cognition, behaviour and Alzheimer’s disease. *Pharmacol Res.* 2018;136(November 2017):29–34.
 25. Kim N, Yun M, Oh YJ, Choi HJ. Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. *J Microbiol.* 2018;56(3):172–82.
 26. Li H, Sun J, Wang F, Ding G, Chen W, Fang R, et al. Sodium butyrate exerts neuroprotective effects by restoring the blood-brain barrier in traumatic brain injury mice. *Brain Res* [Internet]. 2016;1642:70–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2016.03.031>
 27. Psichas A, Sleeth ML, Murphy KG, Brooks L, Bewick GA, Hanyaloglu AC, et al. The short chain fatty acid propionate stimulates GLP-1 and PYY secretion via free fatty acid receptor 2 in rodents. *Int J Obes* [Internet]. 2015;39(3):424–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2014.153>
 28. Rogers GB, Keating DJ, Young RL, Wong ML, Licinio J, Wesselingh S. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: Mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2016;21(6):738–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2016.50>
 29. M. C, A. S, M.A. M, C. S. The gut-brain axis: Interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol* [Internet]. 2015;28(2):203–9. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L603564942>
 30. Ouanes S, Popp J. High Cortisol and the Risk of Dementia and Alzheimer’s Disease: A Review of the Literature. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2019;11(March):1–11. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2019.00043/full>
 31. Hill JM, Lukiw W. Microbial-generated amyloids and Alzheimer’s disease (AD). *Front Aging Neurosci.* 2015;7(JAN):1–5.
 32. Pasinetti G. Role of grape seed polyphenols in Alzheimer’s disease neuropathology. *Nutr Diet Suppl.* 2010;97.
 33. Cattaneo A, Cattane N, Galluzzi S, Provasi S, Lopizzo N, Festari C, et al. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiol Aging.* 2017;49:60–8.
 34. Mancuso C, Santangelo R. Alzheimer’s disease and gut microbiota modifications: The long way between preclinical studies and clinical evidence. *Pharmacol Res.* 2018;129:329–36.
 35. Chung YC, Jin HM, Cui Y, Kim DS, Jung JM, Park J Il, et al. Fermented milk of *Lactobacillus helveticus* IDCC3801 improves cognitive functioning during cognitive fatigue tests in healthy older adults. *J Funct Foods* [Internet]. 2014;10:465–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.007>

36. Inoue T, Kobayashi Y, Mori N, Sakagawa M, Xiao JZ, Moritani T, et al. Effect of combined bifidobacteria supplementation and resistance training on cognitive function, body composition and bowel habits of healthy elderly subjects. *Benef Microbes*. 2018;9(6):843–53.
37. Akbari E, Asemi Z, Kakhaki RD, Bahmani F, Kouchaki E, Tamtaji OR, et al. Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: A randomized, double-blind and controlled trial. *Front Aging Neurosci*. 2016;8(NOV).
38. Kobayashi Y, Kinoshita T, Matsumoto A, Yoshino K, Saito I, Xiao J-Z. Bifidobacterium Breve A1 Supplementation Improved Cognitive Decline in Older Adults with Mild Cognitive Impairment: An Open-Label, Single-Arm Study. *J Prev Alzheimer's Dis* [Internet]. 2019;6(1):70–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30569089>
39. Hwang Y-H, Park S, Paik J-W, Chae S-W, Kim D-H, Jeong D-G, et al. Efficacy and Safety of Lactobacillus Plantarum C29-Fermented Soybean (DW2009) in Individuals with Mild Cognitive Impairment: A 12-Week, Multi-Center, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrients*. 2019;11(2):305.
40. Foster JA, Rinaman L, Cryan JF. Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiol Stress* [Internet]. 2017;7:124–36. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2017.03.001>