

ORIGINAL

## Pérdida del control de la ingesta alimentaria y flexibilidad cognitiva: Participación de la microbiota intestinal

### *Loss of eating control and cognitive flexibility: Involvement of gut microbiota*

SOLVEIGA SAMULÉNAITĖ\*, \*\*; AURELIJUS BUROKAS\*\*, JOSÉ MANUEL FERNÁNDEZ-REAL\*\*\*, \*\*\*\*, JORDI MAYNERIS-PERXACHS\*\*\*, \*\*\*\*, ELENA MARTÍN-GARCÍA\*, \*\*\*\*\*, \*\*\*\*\*; RAFAEL MALDONADO\*, \*\*\*\*\*, \*\*\*\*\*.

\* Laboratorio de Neurofarmacología, Departamento de Medicina y Ciencias de la Vida, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España.

\*\* Departamento de Modelos Biológicos, Instituto de Bioquímica, Centro de Ciencias de la Vida, Universidad de Vilna, Vilna, Lituania.

\*\*\* Departamento de Diabetes, Endocrinología y Nutrición, Hospital Universitario Dr. Josep Trueta, Girona, España.

\*\*\*\* Grupo de Nutrición, Eumetabolismo y Salud, Instituto de Investigación Biomédica de Girona (IDIBGI), Girona, España.

\*\*\*\*\* Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias de la Salud, Universitat Autònoma de Barcelona, Cerdanyola del Vallès (08193), Barcelona, España.

\*\*\*\*\* Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas (IMIM), Barcelona, España.

\*\*\*\*\* INSERM U1329 – Neuropsiquiatría Traslacional, Centro de Investigación en Biomedicina de Estrasburgo (CRBS), Estrasburgo, Francia.

### Resumen

La pérdida del control de la ingesta alimentaria es un factor crucial en el desarrollo de la obesidad. Una alteración cognitiva importante asociada con la pérdida del control de la ingesta alimentaria y la obesidad es el deterioro de la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio. Un número cada vez mayor de estudios confirman que la microbiota intestinal contribuye significativamente a la pérdida del control de la ingesta alimentaria, la obesidad y la función cognitiva. En base a estos datos, hemos investigado si la transferencia de microbiota intestinal de humanos con obesidad/normopeso y flexibilidad cognitiva deteriorada/no deteriorada podría afectar sustancialmente esta respuesta conductual en ratones expuestos a una dieta obesogénica frente a una dieta estándar. Los ratones fueron tratados previamente con un cóctel de antibióticos y luego recibieron un trasplante de microbiota intestinal de humanos. Posteriormente, se realizaron diferentes test de comportamiento para evaluar la flexibilidad cognitiva como una medida del control inhibitorio. El tratamiento con antibióticos deterioró significativamente la memoria a corto plazo en ratones, como se ha informado previamente. Es importante destacar que los ratones que recibieron microbiota de sujetos con alta y baja flexibilidad cognitiva modificaron su rendimiento de memoria a corto y largo plazo en función de la exposición a la dieta. En resumen, este estudio muestra que la microbiota intestinal es un factor que contribuye de manera importante a la flexibilidad cognitiva, lo que puede abrir nuevas estrategias terapéuticas para combatir la pérdida de control de la ingesta alimentaria y las comorbilidades metabólicas asociadas.

**Palabras clave:** Adicción a la comida, obesidad, microbiota intestinal, deterioro cognitivo, trasplante de microbiota fecal

### Abstract

Loss of eating control is a crucial factor in developing obesity, which has become a global health concern, causing important cardiovascular, metabolic, emotional, and cognitive co-morbidities. A major cognitive alteration associated with loss of eating control and obesity is the impairment of cognitive flexibility and inhibitory control. An increasing number of studies confirm that gut microbiota is a significant contributor to loss of eating control, obesity, and cognitive function. Therefore, we have investigated whether gut microbiota transfer from humans with impaired/not impaired cognitive flexibility could substantially affect this behavioral response in mice in the context of obesogenic versus standard diet. Mice were pretreated with an antibiotic cocktail and later received a gut microbiota transplant from human subjects. The transferred microbiota was maintained in mice for seven weeks. Afterward, behavioral tests were performed to evaluate different cognitive responses, locomotor activity, anxiety-like, and depression-like behaviors. Antibiotic treatment significantly impaired short-term memory in mice, as previously reported. Furthermore, mice that received microbiota from high and low cognitive flexibility subjects modified their short-term and long-term memory performance depending on the diet exposure. Slight changes were observed in the locomotor activity, primarily in the high-fat diet-fed antibiotic-treated mice, and no significant alterations were observed in anxiety-like or depressive-like behaviors. In summary, this study shows that gut microbiota is a major contributor to cognitive flexibility, which may open novel therapeutic strategies for combating loss of eating control and related metabolic co-morbidities.

**Keywords:** Loss of eating control, obesity, food addiction, gut microbiota, cognitive flexibility, fecal microbiota transplant

■ Recibido: Marzo 2025; Aceptado: Julio 2025.

■ ISSN: 0214-4840 / E-ISSN: 2604-6334

### ■ Enviar correspondencia a:

Prof. Rafael Maldonado, Laboratorio de Neurofarmacología-Neurophar, Universitat Pompeu Fabra, C/Dr Aiguader 88, Barcelona 08003, España.  
E-mail: rafael.maldonado@upf.edu

La pérdida de control de la ingesta es una alteración conductual estrechamente relacionada con el desarrollo de sobrepeso y obesidad, trastornos metabólicos que han alcanzado niveles epidémicos, con más de 890 millones de personas diagnosticadas con obesidad (WHO. Obesity and Overweight, 2022). El sobrepeso y la obesidad son problemas de salud graves asociados a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2 y alteraciones cognitivas (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a; Kloock et al., 2023). Los tratamientos actuales relacionados con la obesidad tienen una eficacia limitada, y entre el 35 y el 50% de las personas con obesidad recaen durante el primer año, principalmente debido a la pérdida de control de la ingesta, que varios autores incluso han definido como un comportamiento de adicción a la comida con similitudes estrechas a las alteraciones conductuales que definen los trastornos por uso de sustancias (Hussain y Bloom, 2013).

La adicción a la comida es un trastorno alimentario compulsivo que surge de un desequilibrio entre los sistemas de control de la ingesta homeostática y hedónica. Los individuos con adicción a la comida muestran una falta de flexibilidad cognitiva y de control inhibitorio, lo que conduce a una elevada compulsividad, motivación e impulsividad hacia alimentos altamente palatables (Domingo-Rodríguez et al., 2020). A pesar de no estar incluida en el *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th edition* (DSM-5), la adicción a la comida puede diagnosticarse mediante la *Yale Food Addiction Scale-2* (YFAS-2). YFAS-2 es un cuestionario de 35 ítems basado en los criterios del DSM-5 para el trastorno por consumo de sustancias (Penzenstadler et al., 2019). De forma interesante, según YFAS-2, varios estudios han demostrado que no todas las personas con obesidad presentan adicción a la comida, dado que alrededor del 25-37% de las personas con obesidad y el 60% de las personas con obesidad mórbida son diagnosticadas con adicción a la comida (Gupta et al., 2020), lo que apunta a una etiología bastante similar entre estos trastornos alimentarios.

La dieta occidental es una dieta rica en carbohidratos refinados y grasas saturadas, y constituye el principal factor que conduce a la pérdida de control de la ingesta y la obesidad (López-Taboada et al., 2020). De hecho, la elevada palatabilidad de los alimentos puede inducir cambios desadaptativos en el cerebro, contribuyendo al desarrollo de estas alteraciones conductuales y metabólicas (Moore et al., 2017). Además, la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio desempeñan un papel fundamental en la regulación de la ingesta alimentaria y en la determinación de las elecciones alimentarias. Varios autores han demostrado que las personas con obesidad presentan alteraciones de la memoria (Cheke et al., 2016) y deterioro de la flexibilidad cognitiva (Bocarsly et al., 2015; Song et al., 2022). Asimismo, el consumo de dietas ricas en grasas tiene consecuencias negativas importantes sobre el rendimiento cognitivo (Underwood y Thompson, 2016) y la flexibilidad cognitiva (Magnusson et al., 2015). Por otro lado, los recuer-

dos sobre experiencias alimentarias pasadas determinan hábitos futuros de alimentación y elecciones alimentarias, y guían la atención hacia señales relacionadas con la comida, moldeando así nuestras respuestas cognitivas e inhibitorias relacionadas con el control de la ingesta. Es evidente que los deterioros en la flexibilidad cognitiva y el rendimiento cognitivo pueden exacerbar la sobreingesta y contribuir al desarrollo tanto de la obesidad como de la adicción a la comida (Higgs, 2016). De hecho, dedicar tiempo a actividades secundarias sedentarias y que requieren atención interrumpe la formación y la flexibilidad de la memoria, lo que resulta en un aumento de la ingesta alimentaria (Higgs, 2015). Además, los pacientes con deterioro de la memoria muestran hiperfagia debido a la incapacidad de recordar eventos alimentarios recientes (Higgs et al., 2008). Así, en el caso de la obesidad se forma un círculo vicioso, donde la obesidad induce alteraciones cognitivas, que a su vez exacerban aún más la pérdida de control de la ingesta y la sobreingesta.

Varios estudios han destacado la implicación de la microbiota intestinal en diversas condiciones de salud, apuntando a una nueva herramienta potencial para la prevención y el tratamiento de enfermedades. La microbiota intestinal participa en la homeostasis intestinal manteniendo la integridad del epitelio intestinal y participando en el metabolismo y la inmunidad. Además de los efectos locales en el intestino, se sabe que la microbiota desempeña un papel en los procesos metabólicos y afecta al funcionamiento cerebral a través del eje intestino-cerebro (Hou et al., 2022; Megur et al., 2022). Por el contrario, las alteraciones de la microbiota debidas al consumo de una dieta occidental o al uso de antibióticos suelen conducir a disbiosis microbiana. La disbiosis intestinal se asocia con un aumento de la permeabilidad intestinal y con inflamación sistémica de bajo grado, lo que posteriormente contribuye a un aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y a una eventual neuroinflamación (Hrncir, 2022; Kearns, 2024). Esta neuroinflamación puede alterar aún más la conducta alimentaria y deteriorar los procesos cognitivos, y se ha relacionado con diversos trastornos psiquiátricos (Alboni et al., 2017; DiSabato et al., 2016). Las personas con obesidad presentan disbiosis intestinal caracterizada por una menor diversidad y abundancia en el microbioma intestinal, con una disminución significativa de bacterias beneficiosas que puede estar relacionada con un deterioro en el control de la ingesta, el rendimiento y la flexibilidad cognitiva (Chen et al., 2021). Varios de estos estudios previos han demostrado que las alteraciones cognitivas observadas en personas con obesidad pueden transferirse a ratones mediante el uso de trasplante de microbiota fecal (FMT) (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a; Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021), apoyando aún más la relación entre microbiota intestinal y respuestas conductuales. De hecho, el FMT de individuos con obesidad provocó una disminución de la memoria a corto plazo y de trabajo (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a), y un deterioro de la flexibilidad cognitiva

y del control inhibitorio en ratones (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021), indicando que las modulaciones de la microbiota pueden modificar potencialmente las funciones cognitivas. El FMT también fue suficiente para transferir el fenotipo depresivo de humanos obesos a ratones (Mayneris-Perxachs et al., 2022a). De forma similar, un estudio reciente ha demostrado que una composición específica de la microbiota intestinal es necesaria para el desarrollo de la adicción a la comida. Así, humanos y ratones con adicción a la comida mostraron una disminución de *Blautia* sp., y el fenotipo adictivo fue prevenido mediante la administración oral de *Blautia weixlerae* en ratones (Samulėnaitė et al., 2024). Basándonos en estos hallazgos previos, hemos investigado ahora la implicación de la microbiota intestinal en la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio evaluando las consecuencias del FMT de humanos con estos trastornos conductuales en ratones expuestos a dieta obesogénica o estándar.

## Método

### Participantes humanos

Veinte donantes adultos humanos sanos, mujeres y hombres, fueron seleccionados en función de sus puntuaciones de flexibilidad cognitiva, evaluadas mediante el Test Stroop de Palabras y Colores (SCWT, por sus siglas en inglés), tal como se describió anteriormente (Castells-Nobau et al., 2024). Se investigó el índice de masa corporal (IMC) y el estatus socioeducativo entre los grupos. El SCWT se utiliza para investigar el control inhibitorio y la flexibilidad cognitiva en humanos. La flexibilidad cognitiva/control inhibitorio se evaluó en tres pasos sucesivos. Durante la primera parte, se presentan al paciente 100 tarjetas con palabras impresas (nombres de colores) en tinta negra. Durante la segunda parte, se muestran 100 tarjetas con palabras impresas en diferentes colores de tinta (verde, rojo, azul). Finalmente, durante la prueba, se le presentan al paciente 100 tarjetas con nombres de colores que están impresos en una tinta no coincidente. Cada parte dura 45 segundos, tras lo cual se evalúa al paciente. La flexibilidad cognitiva/control inhibitorio se evalúa utilizando la fórmula:  $WC - WC'$  ( $WC' = W \times C/W + C$ ). W (word/palabra) corresponde a la primera parte del experimento, C (color) a la segunda parte, y WC (word-color/palabra-color) a la prueba final. Aquellos pacientes que obtuvieron una puntuación final inferior a cuatro fueron considerados con una flexibilidad cognitiva/control inhibitorio deteriorado. En contraste, aquellos que obtuvieron más de seis fueron considerados con un control inhibitorio/flexibilidad cognitiva óptimos. Las heces de los donantes se prepararon para su administración oral a los ratones en condiciones estériles, con L-cisteína para reducir el oxígeno en el entorno y proteger a las bacterias anaerobias, y un 10% de glicerol para proteger a las bacterias de los daños relacionados con la congelación. Las muestras se alicuotaron y se congelaron a -80 °C.

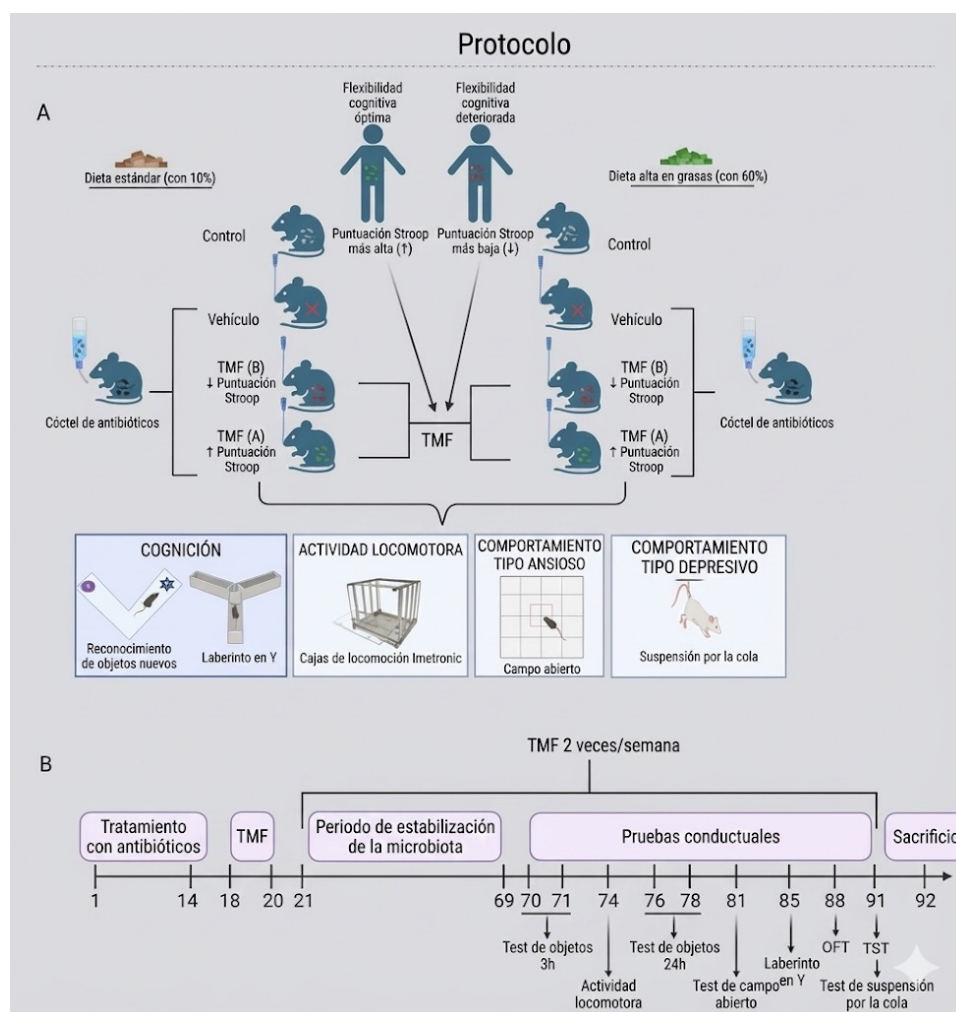
### Animales y diseño experimental

Setenta y siete ratones macho C57BL/6J (4 semanas de edad, 17-21 g de peso) fueron alojados individualmente en condiciones de laboratorio controladas, con una temperatura de  $21 \pm 1$  °C y una humedad del  $55\% \pm 10\%$ , en un ciclo invertido (luces apagadas de 7:30 a.m. a 7:30 p.m.). Se utilizaron ratones convencionales, sin alteraciones iniciales en la composición de su microbiota intestinal. La comida y el agua estuvieron disponibles ad libitum, y se monitorizó el peso corporal de los animales, así como la ingesta de comida y agua durante el protocolo experimental. Todos los experimentos conductuales fueron aprobados por el comité ético local (Comitè Ètic d'Experimentació Animal – Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona) y se realizaron de acuerdo con la Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas (2010/63/EU). La información relativa a la asignación de grupos experimentales y la línea temporal se representa en la Figura 1A y la Figura 1B, respectivamente. Los ratones se dividieron aleatoriamente en ocho grupos, cuatro de los cuales fueron alimentados con una dieta estándar (w/10%) ( $\sim 3.514$  kcal/kg) y los otros cuatro con una dieta alta en grasas (w/60%) ( $\sim 5.228$  kcal/kg). Las dietas irradiadas y envasadas al vacío se compraron a Altromin (Alemania). Ambos grupos se subdividieron en 1) control, 2) vehículo, 3) FMT de individuos con bajas puntuaciones Stroop (FMT (L)), 4) FMT de individuos con puntuaciones Stroop altas (FMT (H)) (Figura 1A). Cada ratón recibió microbiota de un donante humano específico, permitiendo una evaluación individual del efecto de la microbiota sobre la función cerebral, en el contexto de dietas altas en grasa y estándar.

Todos los grupos, excepto ambos controles, recibieron un cóctel antibiótico (500 mg/L de ampicilina, 500 mg/L de metronidazol, 500 mg/L de vancomicina, 250 mg/L de imipenem, 1 g/L de neomicina) diariamente durante dos semanas en el agua de bebida, como se describió previamente (Kelly et al., 2016). Setenta y dos horas más tarde, los ratones fueron sometidos a gavado oral con suero salino (1x PBS + 1 g/L de L-cisteína + 10% de glicerol) (grupo vehículo) o con material fecal de los donantes (grupos FMT) mediante gavado oral (200 mg/ml, 200  $\mu$ L) durante tres días consecutivos, como se describió previamente (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a), y posteriormente dos veces por semana durante todo el protocolo experimental. Tras siete semanas, los ratones fueron expuestos a una serie de pruebas conductuales, incluyendo una prueba de reconocimiento de objeto nuevo (NORT 3h y NORT 24h, en los días 70-71 y 76-78, respectivamente), actividad locomotora (día 81), laberinto en Y (día 85), prueba de campo abierto (OFT, día 88) y prueba de suspensión por la cola (TST, día 91). En el último día del estudio (día 92), los ratones fueron sacrificados, y se recolectaron varias áreas cerebrales y plasma sanguíneo para análisis posteriores (Figura 1B).

**Figura 1**

Protocolo experimental. A. Protocolo experimental y asignación de grupos. B. Cronograma experimental (días)



**Nota. A.** El material fecal de humanos con flexibilidad cognitiva deteriorada (puntuaciones bajas en Stroop; FMT (L)) u óptima (puntuaciones altas en Stroop; FMT (H)) fue procesado para su administración oral a los ratones. Todos los ratones, excepto el grupo control, recibieron tratamiento antibiótico, seguido de una administración oral de vehículo o trasplante de microbiota fecal (FMT) dos veces por semana durante todo el protocolo experimental. Los ratones fueron alimentados con una dieta estándar o una dieta alta en grasa. Al finalizar el protocolo, se realizaron las pruebas conductuales: prueba de reconocimiento de objeto nuevo (NORT) para memoria a corto y largo plazo, laberinto en Y para memoria de trabajo, prueba de campo abierto (OFT) y laberinto en cruz elevado (EPM) para conducta tipo ansiedad, y prueba de suspensión por la cola (TST) para conducta tipo depresión. Además, se evaluó la actividad locomotora.

**B.** Los ratones recibieron tratamiento antibiótico durante dos semanas; tras un periodo de 72 horas, se realizó la administración oral de vehículo o trasplante de microbiota fecal durante tres días consecutivos y posteriormente dos veces por semana durante todo el protocolo experimental. Después de siete semanas de estabilización, se realizaron las pruebas conductuales para evaluar la memoria a corto plazo (días 70-71) y la memoria a largo plazo (días 76-78) mediante la prueba de reconocimiento de objeto nuevo, la conducta tipo ansiedad mediante el laberinto en cruz elevado (día 74) y la prueba de campo abierto (día 88), y la conducta tipo depresión (día 91) mediante la prueba de suspensión por la cola.

## Cognición

### Reconocimiento de objeto nuevo

Se realizó una prueba de reconocimiento de objeto nuevo (NORT) para evaluar la memoria a largo y a corto plazo, tal como se describió previamente (Burokas et al., 2014). La prueba se lleva a cabo en un laberinto en forma de V (30 cm de largo × 4,5 cm de ancho × 15 cm de altura de cada corredor), iluminado con 2,5 lux en ambas esquinas. En el primer día, los ratones fueron habituados al laberinto durante 9 minutos. Al día siguiente, se introdujo a los ratones en el laberinto con dos objetos idénticos en lados opuestos y se les dejó explorar durante 9 minutos. Tras 3 horas o 24 horas, se realizó la prueba para evaluar la memoria a corto o largo plazo, respectivamente. Durante la prueba, uno

de los objetos familiares fue reemplazado por uno nuevo, y se dejó a los ratones explorar ambas figuras durante 9 minutos; se midió el tiempo total explorando ambos objetos. Se verificó que no existiera preferencia inicial por los objetos utilizados. Se calculó un índice de discriminación (DI) como la diferencia entre el tiempo que el animal pasó explorando el objeto nuevo ( $T_n$ ) o el familiar ( $T_f$ ), dividido por el tiempo total de exploración de ambos objetos:  $DI = (T_n - T_f) / (T_n + T_f)$ . Un índice de discriminación más alto refleja una mayor retención de memoria para el objeto familiar. Los ratones que exploraron menos de 10 segundos fueron excluidos del análisis. El análisis de los datos conductuales se realizó manualmente usando cronómetros calibrados.

## Laberinto Y

La prueba del laberinto en Y se basa en la curiosidad innata de los roedores para explorar áreas previamente no visitadas. Esta prueba se realizó para evaluar la memoria de trabajo, tal como se describió previamente (Vijaya et al., 2024). El laberinto consiste en tres brazos idénticos que se intersectan a 120° (forma de Y; 6,5 cm de ancho × 30 cm de largo × 15 cm de altura), con una iluminación de 10 lux en todas las entradas. Las entradas en los brazos del laberinto se contaron durante 10 minutos (se considera una entrada válida cuando el animal introduce la cabeza y ambas patas delanteras), y se calculó el porcentaje de alternancia espontánea mediante las entradas secuenciales en los tres brazos dividido por el número total de alternancias posibles. El análisis de los datos conductuales se realizó manualmente.

## Actividad locomotora

La actividad locomotora se evaluó en cajas individuales de actividad locomotora (10,8 cm de ancho × 20,3 cm de largo × 18,6 cm de altura, Imetronic, Pessac, Francia). La actividad total (número de interrupciones de haces) y el número total de rearings fueron detectados durante 1 hora mediante sensores infrarrojos.

## Respuestas tipo-ansiosas

La prueba de campo abierto (OFT) se utilizó para evaluar el comportamiento tipo ansiedad. Esta prueba se basa en el conflicto entre el miedo innato y la evitación de áreas abiertas y brillantes (que imitan una situación de riesgo de depredador) y el instinto de explorar entornos nuevos. Los ratones fueron colocados en el centro de la caja (90 cm × 70 cm, 500 lux), y sus movimientos fueron registrados durante 5 minutos. La preferencia por permanecer en la periferia de la caja indica un comportamiento de mayor ansiedad. El análisis de los datos conductuales se realizó con el software de seguimiento de vídeo Smart 3.0.

## Respuestas tipo-depresivas

La prueba de suspensión por la cola (TST) evalúa el comportamiento tipo depresivo. Durante la prueba, los ratones fueron suspendidos por la cola con cinta adhesiva en una posición que les impedía escapar o sujetarse a superficies cercanas durante 6 minutos. Se midió el tiempo de inmovilidad (definido como el tiempo durante el cual el animal cuelga pasivamente y sin movimiento), y cuanto mayor es el tiempo de inmovilidad, mayor es el comportamiento tipo depresivo. El análisis de los datos conductuales se realizó manualmente mediante cronómetros calibrados.

## Análisis estadísticos

Todos los datos se expresan como media ± error estándar de la media (S.E.M.). Las figuras se prepararon usando el software GraphPad Prism (GraphPad Software), las ilustraciones se realizaron con Biorender, y el análisis

estadístico se llevó a cabo utilizando IBM SPSS 28.0. La distribución normal de los datos se evaluó en todos los conjuntos de datos utilizando la prueba de Shapiro-Wilk para seleccionar los tests estadísticos apropiados. Se utilizaron comparaciones ANOVA de dos vías o Kruskal-Wallis cuando fue apropiado, seguidas de un análisis post hoc de Fisher o de una prueba U de Mann-Whitney, respectivamente, cuando fue necesario. El tamaño del efecto para el ANOVA de dos vías se calculó como eta cuadrado ( $\eta^2$ ) usando SPSS, mientras que el tamaño del efecto para las comparaciones de Kruskal-Wallis ( $\eta^2$ ) se calculó manualmente. Valores superiores a 0,14 indican un efecto grande. El tamaño del efecto para la prueba U de Mann-Whitney se calculó manualmente como la correlación biserial de rangos (r), siendo valores r superiores a 0,5 indicativos de un efecto fuerte. En el análisis post hoc de Fisher, el tamaño del efecto se evaluó mediante el d de Cohen, calculado manualmente, considerándose un efecto grande cuando los valores d fueron superiores a 0,8.

## Resultados

Se seleccionaron veinte donantes humanos sanos, hombres y mujeres con una edad media de  $48 \pm 9$ . Todos los individuos eran obesos, con un IMC medio de  $32,4 \pm 9,8$ , de estatus socioeducativo similar, con una media de  $13 \pm 4$  años de educación. Las puntuaciones de Stroop, evaluadas mediante el SCWT, fueron inferiores a 4 en los donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada y superiores a 6 en los donantes con flexibilidad cognitiva óptima. No se observaron diferencias significativas entre la edad, el sexo, el IMC y el estatus socioeducativo entre los grupos con diferentes puntuaciones de flexibilidad cognitiva (Tabla 1).

En el estudio se utilizaron un total de 77 ratones machos C57BL/6J de 4 semanas de edad. Los ratones se dividieron en 8 grupos, con 9-10 ratones por grupo (Figura 1A). La mitad de los ratones fueron alimentados con dieta estándar y la otra mitad fueron expuestos a una dieta alta en grasas. Todos los ratones, excepto el grupo control, recibieron un cóctel de antibióticos para la depleción de la microbiota y se les administró por vía oral un vehículo, como control adicional, o la microbiota intestinal de un donante humano. Cada ratón recibió microbiota de un donante humano específico, lo que permitió la evaluación individual del efecto de la microbiota sobre la función cerebral.

## El impacto de la microbiota intestinal en los parámetros metabólicos

Evaluamos el peso corporal, la ingesta de comida, calorías y agua en los ratones durante el protocolo experimental para examinar el impacto de la dieta y de los cambios en la microbiota sobre estos parámetros. Aunque la dieta no afectó de forma principal al peso corporal de los ratones (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 37,481$ ,  $\eta^2 = 0,442$ ,  $p < 0,001$ ;

Tabla 1

La información sobre los donantes humanos

Características	General (N = 20) <sup>1</sup>	STROOP alto (N = 10) <sup>1</sup>	STROOP bajo (N = 10) <sup>1</sup>	P valor <sup>2</sup>
Edad	48 ± 9	47 ± 7	49 ± 11	0,57
Sexo				0,63
1 (Categoría 1)	6 (30%)	4 (40%)	2 (20%)	
2 (Categoría 2)	14 (70%)	6 (60%)	8 (80%)	
IMC	32,4 ± 9,8	32,5 ± 10,8	32,3 ± 9,4	0,97
Años de educación	13 ± 4	13 ± 4	13 ± 3	0,81

<sup>1</sup> Media ± DT; n (%). <sup>2</sup> Análisis de medias de una vía; prueba exacta de Fisher.

Nota. La tabla muestra la edad, el sexo, el IMC y los años de educación en la población total y entre los donantes con puntuaciones altas o bajas en la prueba de Stroop.

post-hoc  $U = 585$ , n.s.; Figura 2A), las modulaciones de la microbiota tuvieron un efecto significativo. En primer lugar, los ratones alimentados con dieta estándar que recibieron microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mostraron una disminución significativa del peso corporal (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 37,481$ ,  $\eta^2 = 0,442$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 14$ ,  $r = 0,58$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 2A, izquierda), en comparación con el grupo control, sin cambios significativos en otros grupos alimentados con dieta estándar. Sin embargo, los ratones alimentados con dieta alta en grasas que recibieron un cóctel de antibióticos y administración oral de vehículo presentaron una disminución significativa del peso corporal tanto en comparación con el grupo control (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 37,481$ ,  $\eta^2 = 0,442$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 0$ ,  $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2A, derecha) como con los grupos experimentales que recibieron FMT de donantes con baja (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 37,481$ ,  $\eta^2 = 0,442$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 11$ ,  $r = 0,61$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2A, derecha) o alta (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 37,481$ ,  $\eta^2 = 0,442$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 12$ ,  $r = 0,62$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2A, derecha) flexibilidad cognitiva. Además, los grupos experimentales alimentados con dieta alta en grasas y que recibieron FMT también mostraron una disminución del peso corporal en comparación con el grupo control (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 37,481$ ,  $\eta^2 = 0,442$ ,  $p < 0,001$ ; FMT (L) post-hoc  $U = 2$ ,  $r = 0,81$ ,  $p < 0,001$ ; FMT (H) post-hoc  $U = 0$ ,  $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2A, derecha).

A pesar de los cambios en el peso corporal, la ingesta de comida no se vio afectada por la dieta ni por las modulaciones de la microbiota (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 13,230$ , n.s.; Figura 2B). Debido a un mayor contenido calórico de la dieta alta en grasas, los ratones consumieron significativamente más calorías en comparación con el grupo de dieta estándar (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 58,909$ ,  $\eta^2 = 0,752$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 13$ ,  $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2C, derecha). Además, se observaron varios cambios entre los grupos con diferentes composiciones de microbiota. En primer lugar, los ratones alimentados con dieta estándar que recibieron administración oral de

vehículo (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 58,909$ ,  $\eta^2 = 0,752$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 19$ ,  $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 2C, izquierda), o trasplante de microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 58,909$ ,  $\eta^2 = 0,752$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 13$ ,  $r = 0,84$ ,  $p < 0,01$ ; Figura 2C, izquierda), o donantes con flexibilidad cognitiva óptima (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 58,909$ ,  $\eta^2 = 0,752$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 22$ ,  $r = 0,47$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 2C, izquierda) presentaron una disminución significativa en la ingesta calórica en comparación con el grupo control. Se observaron efectos menos pronunciados en los ratones alimentados con dieta alta en grasas, ya que solo los ratones que recibieron FMT de donantes con valores altos de puntuación Stroop disminuyeron significativamente la ingesta calórica en comparación con el control (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 58,909$ ,  $\eta^2 = 0,752$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 21$ ,  $r = 0,49$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 2C, derecha), sugiriendo un posible papel protector en el desarrollo de la obesidad.

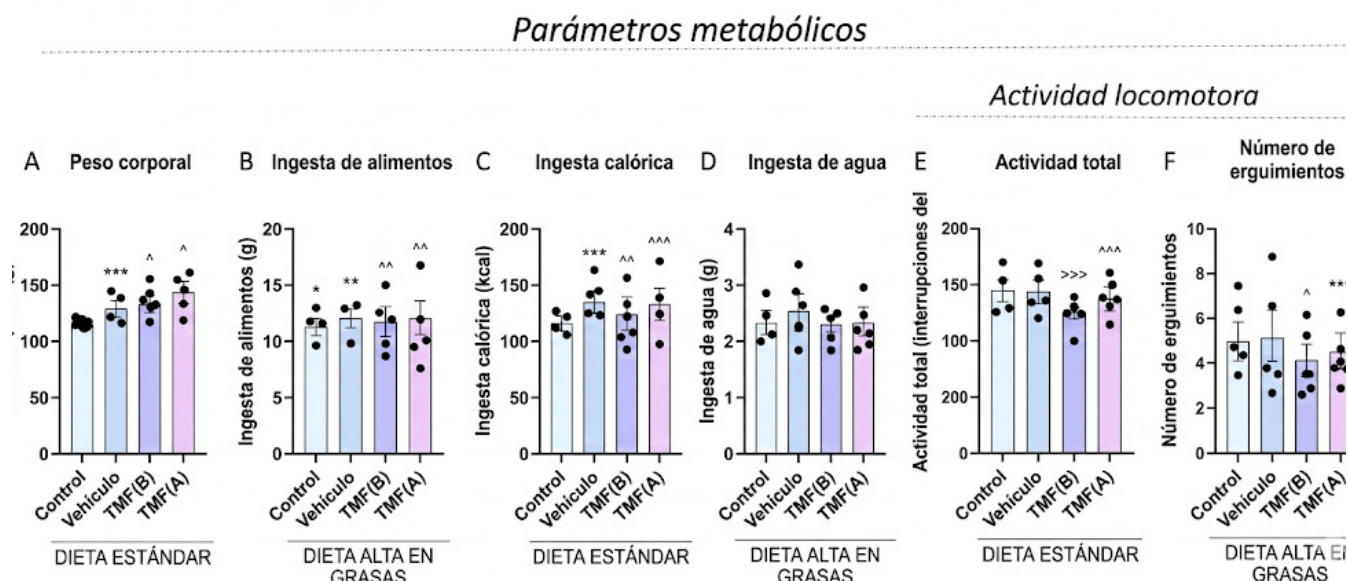
De forma interesante, los ratones alimentados con dieta alta en grasas disminuyeron significativamente la ingesta de agua en comparación con el grupo de dieta estándar (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 35,586$ ,  $\eta^2 = 0,414$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 188$ ,  $r = 0,64$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2D). Aunque el análisis global indicó alteraciones relacionadas con la microbiota en la ingesta de agua, esto no fue confirmado por las comparaciones post hoc posteriores ni en los ratones alimentados con dieta estándar (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 35,586$ ,  $\eta^2 = 0,4143$ ,  $p < 0,001$ ; control x vehículo,  $U = 48$ , n.s.; control x FMT (L),  $U = 28$ , n.s.; control x FMT (H),  $U = 32$ , n.s.; vehículo x FMT (L),  $U = 26$ , n.s.; vehículo x FMT (H),  $U = 33,5$ , n.s.; Figura 2D, izquierda) ni en los ratones alimentados con dieta alta en grasas (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 35,586$ ,  $\eta^2 = 0,4143$ ,  $p < 0,001$ ; control x vehículo,  $U = 31$ , n.s.; control x FMT (L),  $U = 33$ , n.s.; control x FMT (H),  $U = 47$ , n.s.; vehículo x FMT (L),  $U = 40$ , n.s.; vehículo x FMT (H),  $U = 30$ , n.s.; Figura 2D, derecha).

La dieta también tuvo un impacto en la actividad locomotora, como se observó por una actividad significati-



**Figura 2**

**Parámetros metabólicos y actividad locomotora de los ratones. A. Peso corporal medio (g). B. Ingesta media de alimento (g). C. Ingesta media de calorías (kcal). D. Ingesta de agua (g). E. Actividad locomotora: actividad locomotora total (interrupciones de haz). F. Actividad locomotora: número de rearing**



**Nota.** A. Los datos fueron analizados utilizando la prueba H de Kruskal-Wallis;  $H(7) = 37,481$ ,  $\eta^2 = 0,442$ ,  $p < 0,001$ ; \*sig. STD control  $\times$  STD FMT (L), post-hoc  $U = 14$ ,  $r = 0,58$ ,  $p < 0,05$ ; \*\*\*sig. HFD control  $\times$  HFD vehículo, post-hoc  $U = 0$ ,  $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ; \*\*\*sig. HFD control  $\times$  HFD FMT (L), post-hoc  $U = 2$ ,  $r = 0,81$ ,  $p < 0,001$ ; \*\*\*sig. HFD control  $\times$  HFD FMT (H), post-hoc  $U = 0$ ,  $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ; ^^sig. HFD vehículo  $\times$  HFD FMT (L), post-hoc  $U = 11$ ,  $r = 0,61$ ,  $p < 0,01$ ; ^^sig. HFD vehículo  $\times$  HFD FMT (H), post-hoc  $U = 12$ ,  $r = 0,62$ ,  $p < 0,01$ .

C. Los datos fueron analizados utilizando la prueba H de Kruskal-Wallis;  $H(7) = 58,909$ ,  $\eta^2 = 0,752$ ,  $p < 0,001$ ; >>>sig. dieta, post-hoc  $U = 13$ ,  $r = 0,84$ ,  $p < 0,001$ ; \*sig. STD control  $\times$  STD vehículo, post-hoc  $U = 19$ ,  $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ; \*\*sig. STD control  $\times$  STD FMT (L), post-hoc  $U = 13$ ,  $r = 0,59$ ,  $p < 0,01$ ; \*sig. STD control  $\times$  STD FMT (H), post-hoc  $U = 22$ ,  $r = 0,47$ ,  $p < 0,05$ ; \*sig. HFD control  $\times$  HFD FMT (H), post-hoc  $U = 21$ ,  $r = 0,49$ ,  $p < 0,05$ .

D. Los datos fueron analizados utilizando la prueba H de Kruskal-Wallis;  $H(7) = 35,586$ ,  $\eta^2 = 0,414$ ,  $p < 0,001$ ; >>>sig. dieta, post-hoc  $U = 188$ ,  $r = 0,64$ ,  $p < 0,001$ .

E. Los datos fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. Grupos  $F(3, 69) = 3,393$ ,  $\eta^2 = 0,129$ ,  $p < 0,05$ ; \*\*\*sig. HFD control  $\times$  HFD vehículo, post-hoc  $I-J = -978,933$ ,  $d = 7,49$ ,  $p < 0,001$ ; \*sig. HFD vehículo  $\times$  HFD FMT (L), post-hoc  $I-J = -673,389$ ,  $d = 1,66$ ,  $p < 0,05$ ; >>>sig. dieta, ANOVA de dos vías dieta,  $F(1, 69) = 26,712$ ,  $\eta^2 = 0,279$ ,  $p < 0,001$ .

F. Los datos fueron analizados mediante la prueba H de Kruskal-Wallis;  $H(7) = 35,963$ ,  $\eta^2 = 0,419$ ,  $p < 0,001$ ; ^sig. STD vehículo  $\times$  STD FMT (H), post-hoc  $U = 23$ ,  $r = 0,46$ ,  $p < 0,05$ ; \*sig. HFD control  $\times$  HFD vehículo, post-hoc  $U = 17$ ,  $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ; >>>sig. dieta, post-hoc  $U = 217,5$ ,  $r = 0,61$ ,  $p < 0,001$ .

**Abreviaturas:** STD – dieta estándar; HFD – dieta alta en grasa; FMT – trasplante de microbiota fecal; FMT (L) – FMT de donantes con baja flexibilidad cognitiva; FMT (H) – FMT de donantes con alta flexibilidad cognitiva.

vamente reducida (ANOVA de dos vías; dieta,  $F(1, 69) = 26,712$ ,  $\eta^2 = 0,279$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2E, derecha) y el número de rearings (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 35,963$ ,  $\eta^2 = 0,419$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 217,5$ ,  $r = 0,61$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2F, derecha) en los ratones alimentados con dieta alta en grasas. Estas alteraciones en la actividad locomotora fueron moduladas por la composición de la microbiota. Así, los ratones del grupo vehículo, que tenían la microbiota intestinal depletada con antibióticos, mostraron un aumento significativo en la actividad total (ANOVA de dos vías; dieta,  $F(1, 69) = 26,712$ ,  $\eta^2 = 0,279$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $I-J = -978,933$ ,  $d = 7,49$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 2E, derecha) y en el número de rearings (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 35,963$ ,  $\eta^2 = 0,419$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 17$ ,  $r = 0,51$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 2F, derecha), en comparación con los ratones control alimentados con dieta alta en grasas. El grupo de dieta alta en grasas que recibió FMT de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mostró una disminución de la actividad locomotora total en comparación con el grupo vehículo (ANOVA de dos vías; grupos,  $F(3, 69) = 3,393$ ,  $\eta^2 = 0,129$ ,  $p < 0,05$ ; post-hoc  $I-J = -673,389$ ,  $d = 1,66$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 2E, derecha), pero no en comparación con el grupo control (ANOVA de dos

vías; grupos,  $F(3, 69) = 3,393$ ,  $\eta^2 = 0,129$ ,  $p < 0,05$ ; post-hoc  $I-J = -303,544$ , n.s.; Figura 2E, derecha). Finalmente, los ratones alimentados con dieta estándar que recibieron un trasplante de microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva óptima mostraron una disminución en el número de rearings en comparación con el grupo vehículo (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 35,963$ ,  $\eta^2 = 0,419$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 23$ ,  $r = 0,46$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 2F, izquierda), pero no en comparación con el grupo control (Test de Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 35,963$ ,  $\eta^2 = 0,419$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc  $U = 29$ , n.s.; Figura 2F, izquierda).

### La trasplatación de microbiota fecal altera el rendimiento de la memoria

La memoria a corto, largo plazo y de trabajo se evaluaron para comprender mejor las relaciones entre la microbiota intestinal, la flexibilidad cognitiva y el deterioro cognitivo. En primer lugar, no se observó ningún efecto de la dieta sobre la memoria a corto plazo (Kruskal-Wallis H;  $H(7) = 16,916$ ,  $\eta^2 = 0,144$ ; post-hoc  $U = 683$ , n.s.; Figura 3A), la memoria a largo plazo (ANOVA de dos vías; dieta  $F(1, 61) = 0,139$ , n.s.; microbiota  $F(3, 61) = 6,957$ ,  $\eta^2 = 0,255$ ,  $p < 0,001$ ; interacción  $F(3, 61) = 0,319$ , n.s.; Figura 3B) y la

memoria de trabajo (ANOVA de dos vías; dieta  $F(1, 69) = 1,644$ , n.s.; microbiota  $F(3, 69) = 1,509$ , n.s.; interacción  $F(3, 69) = 0,183$ , n.s.; Figura 3C).

El grupo vehículo alimentado con dieta estándar con microbiota intestinal depletada por antibióticos mostró una memoria a corto plazo deteriorada, con un tamaño del efecto elevado (Test de Kruskal-Wallis  $H(7) = 16,916$ ,  $\eta^2 = 0,144$ ,  $p < 0,05$ ; post-hoc  $U = 6$ ,  $r = 0,74$ ,  $p < 0,001$ ; Figura 3A). Sin embargo, este mismo efecto no se observó en los ratones alimentados con dieta alta en grasas (Test de Kruskal-Wallis  $H(7) = 16,916$ ,  $\eta^2 = 0,144$ ,  $p < 0,05$ ; post-hoc  $U = 23$ , n.s.; Figura 3A). Este deterioro de la memoria inducido por antibióticos fue revertido mediante la trasplante de microbiota procedente de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada (Kruskal-Wallis  $H(7) = 16,916$ ,  $\eta^2 = 0,144$ ,  $p < 0,05$ ; post-hoc  $U = 14$ ,  $r = 0,58$ ,  $p < 0,05$ ). Mientras tanto, aquellos que recibieron microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva óptima mostraron una tendencia hacia una mejora de la memoria a corto plazo (Kruskal-Wallis  $H(7) = 16,916$ ,  $\eta^2 = 0,144$ ,  $p < 0,05$ ; post-hoc  $U = 22$ ,  $p = 0,065$ , n.s.; Figura 3A, izquierda). No se observaron diferencias significativas entre los grupos alimentados con dieta alta en grasas (Kruskal-Wallis  $H(7) = 16,916$ ,  $\eta^2 = 0,144$ ,  $p < 0,05$ ; post-hoc control x vehículo  $U = 23$ ; control x FMT (L)  $U = 35$ ; control x FMT (H)  $U = 38$ ; vehículo x FMT (L)  $U = 39$ , n.s.; vehículo x FMT (H)  $U = 23$ , n.s.; Figura 3A, derecha).

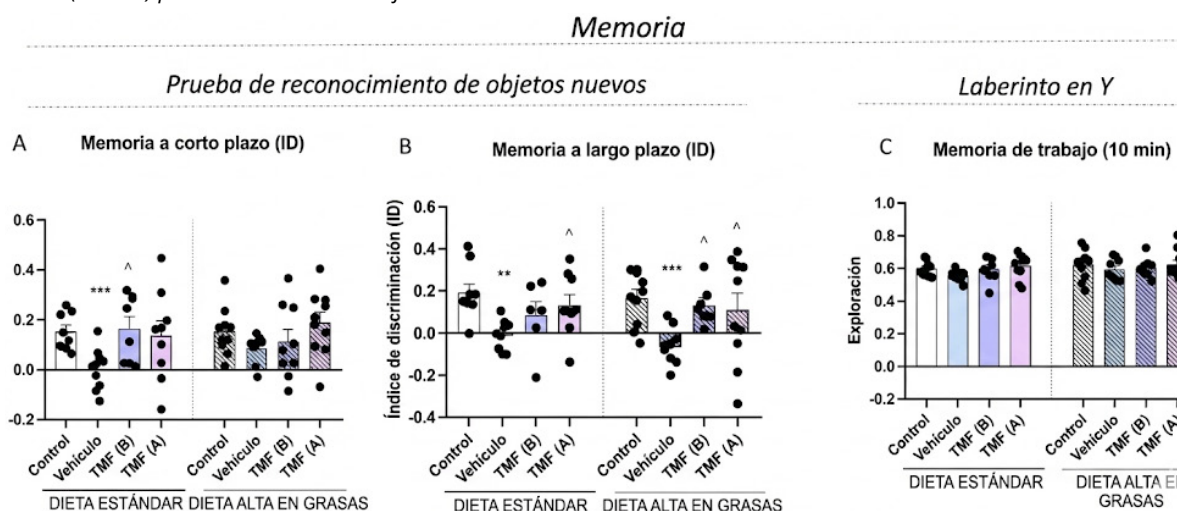
Los efectos sobre la memoria a largo plazo fueron más pronunciados que en la memoria a corto plazo. El grupo

vehículo mostró un deterioro significativo en la memoria a largo plazo, independiente de la dieta (STD control x STD vehículo ANOVA de dos vías; grupos  $F(3, 61) = 6,957$ ,  $\eta^2 = 0,255$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc I-J = -0,199,  $d = 5,82$ ,  $p < 0,01$ ; HFD control x HFD vehículo post-hoc I-J = -0,226,  $d = 6,37$ ,  $p = 0,001$ ; Figura 3B), con un tamaño del efecto elevado. Este deterioro cognitivo fue aliviado por FMT de humanos con puntuaciones Stroop altas tanto en ratones alimentados con dieta estándar (ANOVA de dos vías; grupos  $F(3, 61) = 6,957$ ,  $\eta^2 = 0,255$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc I-J = -0,139,  $d = 3,63$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 3B, izquierda) como en ratones alimentados con dieta alta en grasas (ANOVA de dos vías; grupos  $F(3, 61) = 6,957$ ,  $\eta^2 = 0,255$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc I-J = -0,169,  $d = 2,78$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 3B, derecha). Además, la trasplante de microbiota de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada también mejoró la memoria a largo plazo, en comparación con el grupo vehículo, pero solo en los ratones alimentados con dieta alta en grasas (ANOVA de dos vías; grupos  $F(3, 61) = 6,957$ ,  $\eta^2 = 0,255$ ,  $p < 0,001$ ; post-hoc I-J = -0,192,  $d = 5,97$ ,  $p < 0,05$ ; Figura 3B, derecha). Estos cambios en la memoria a corto y largo plazo revelan la implicación de la microbiota intestinal en el rendimiento cognitivo.

No se observaron diferencias significativas entre los grupos en la memoria de trabajo en el contexto de diferentes dietas y composiciones de microbiota (ANOVA de dos vías; dieta  $F(1, 69) = 1,644$ , n.s.; microbiota  $F(3, 69) = 1,509$ , n.s.; interacción  $F(3, 69) = 0,183$ , n.s.; Figura 3C).

### Figura 3

Efecto del trasplante de microbiota fecal sobre la memoria a corto plazo, largo plazo y de trabajo en ratones. **A.** Índice de discriminación (DI) durante una prueba de reconocimiento de objeto novedoso para memoria a corto plazo (3 h). **B.** Índice de discriminación (DI) durante una prueba de reconocimiento de objeto novedoso para memoria a largo plazo (24 h). **C.** Exploración del laberinto en Y (10 min) para memoria de trabajo



**Nota.** A. Los datos fueron analizados mediante la prueba  $H$  de Kruskal-Wallis;  $H(7) = 16,916$ ,  $\eta^2 = 0,144$ ,  $p < 0,05$ ; \*\*\*sig. STD control x STD vehículo, post-hoc  $U = 6$ ,  $r = 0,74$ ,  $p < 0,001$ ; ^sig. STD vehículo x STD FMT (L), post-hoc  $U = 14$ ,  $r = 0,58$ ,  $p < 0,05$ .

B. Los datos fueron analizados mediante un ANOVA de dos vías. Grupos  $F(3, 61) = 6,957$ ,  $\eta^2 = 0,255$ ,  $p < 0,001$ ; \*\*\*sig. STD control x STD vehículo, post-hoc I-J = -0,199,  $d = 5,82$ ,  $p < 0,01$ ; ^sig. STD vehículo x STD FMT (H), post-hoc I-J = -0,139,  $d = 3,63$ ,  $p < 0,05$ ; \*\*\*sig. HFD control x HFD vehículo, post-hoc I-J = -0,226,  $d = 6,37$ ,  $p = 0,001$ ; ^sig. HFD vehículo x FMT (L), post-hoc I-J = -0,192,  $d = 5,97$ ,  $p < 0,05$ ; ^sig. HFD vehículo x FMT (H), post-hoc I-J = -0,169,  $d = 2,78$ ,  $p < 0,05$ .

**Abreviaturas:** STD – dieta estándar; HFD – dieta alta en grasa; FMT – trasplante de microbiota fecal; FMT (L) – FMT de donantes con baja flexibilidad cognitiva; FMT (H) – FMT de donantes con alta flexibilidad cognitiva.



## El trasplante de microbiota fecal no afectó a la ansiedad ni a la depresión

La dieta alta en grasas no tuvo ningún efecto sobre las conductas de tipo ansioso (ANOVA de dos vías; dieta F (1, 69) = 3,020, n.s.; microbiota F (3, 69) = 0,403, n.s.; interacción F (3, 69) = 0,586, n.s.; Figura 4A) ni similares a depresión (Test de Kruskal-Wallis H; H (7) = 5,237, n.s.; Figura 4B). Además, no se observaron diferencias significativas entre los grupos con diferentes composiciones de microbiota en la prueba de campo abierto, que representa un modelo de conducta de tipo ansioso (ANOVA de dos vías; dieta F (1, 69) = 3,020, n.s.; microbiota F (3, 69) = 0,403, n.s.; interacción F (3, 69) = 0,586, n.s.; Figura 4A), ni en la prueba de suspensión por la cola, que representa una conducta de tipo depresivo (Test de Kruskal-Wallis H; H (7) = 5,237, n.s.; Figura 4B).

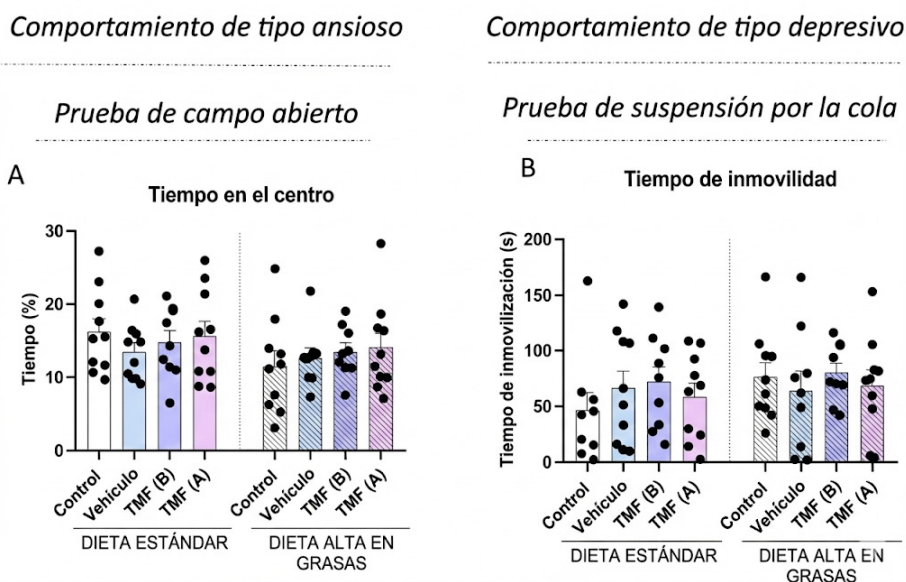
## Discusión

En este estudio, hemos revelado la relación entre la flexibilidad cognitiva y diferentes parámetros del rendimiento cognitivo, proporcionando nuevos conocimientos para comprender los mecanismos implicados en la pérdida de control de la ingesta, que presenta estrechas similitudes conductuales con las alteraciones de conducta que subyacen a los trastornos por uso de sustancias. En primer lugar, demostramos déficits cognitivos inducidos por antibióticos, los cuales fueron aliviados mediante TFM. En este sentido, la TFM procedente de individuos con puntuaciones altas de flexibilidad cognitiva/control inhibitorio mejoró la memoria a largo plazo independientemente de la dieta. Sin embargo, no se observó ningún efecto significativo en la memoria a corto plazo. De manera notable, el trasplante de microbiota procedente de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mejoró la memoria a corto plazo en los ratones alimentados con dieta estándar y la memoria a largo plazo en los ratones alimentados con una dieta alta en grasas. En conjunto, nuestros resultados indican que la dieta y la composición de la microbiota influyen en la función cerebral. En nuestras condiciones experimentales no se observó ningún efecto de la TFM o de la exposición a la dieta sobre las conductas tipo ansiedad o tipo depresión.

La TFM ha sido ampliamente investigada como una herramienta prometedora para estudiar el papel de la microbiota intestinal en diversas condiciones fisiopato-

lógicas. De hecho, teniendo en cuenta la implicación de la microbiota intestinal en las respuestas conductuales y en las funciones metabólicas, se ha observado que la TFM puede inducir importantes modificaciones metabólicas en ratones, incluyendo una mejora en los niveles de glucosa en ayunas (Qiu et al., 2023), diabetes tipo 2 (Chen et al., 2023), sensibilidad a la insulina (Vrieze et al., 2012; Wu et al., 2023), perfil lipídico (Liang et al., 2022), peso corporal (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020b; Mayneris-Perxachs et al., 2020) y varios deterioros conductuales mediados por el sistema nervioso central (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021; Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a). Además de los efectos periféricos, la microbiota intestinal también tiene un impacto significativo sobre las respuestas conductuales. Varios estudios han mostrado que la TFM procedente de donantes sanos ha mejorado los síntomas de diversas condiciones neurológicas y psiquiátricas, incluyendo el trastorno del espectro autista, el dolor neuropático, la epilepsia, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la depresión, entre otras (Vendrik et al., 2020). Algunos de estos estudios también han puesto de manifiesto el impacto de la microbiota intestinal en el rendimiento cognitivo. Así, los individuos con mala memoria presentaban una baja diversidad microbiana, lo que subraya esta comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro en el control cognitivo (El-Sayed et al., 2021). En ratones, el deterioro cognitivo inducido por antibióticos fue revertido mediante el uso de dos cepas bacterianas diferentes a través de la producción de neurotransmisores y la actividad antioxidante (Yarullina et al., 2024). El ejercicio, uno de los principales moduladores de la microbiota, muestra un potencial para aliviar los déficits hipocámpales inducidos por la microbiota. De hecho, los ratones tratados con anti-

**Figura 4**  
Efecto del trasplante de microbiota fecal sobre la conducta tipo ansiedad y la conducta tipo depresión en ratones. A. Tiempo (%) en el centro de la prueba de campo abierto. B. Tiempo de inmovilidad (s) durante la prueba de suspensión por la cola



bióticos muestran inflamación de bajo grado y déficits en la conducta inducida por la separación, que fueron mitigados mediante el ejercicio (Nicolas et al., 2024). En otro estudio, el deterioro cognitivo inducido por antibióticos fue revertido mediante el uso de dos cepas diferentes de *Lactobacillus* a través de la producción de neurotransmisores y actividad antioxidante (Yarullina et al., 2024). De manera similar, en nuestro estudio, demostramos que el tratamiento con antibióticos indujo déficits cognitivos que fueron mejorados mediante el trasplante de microbiota, independientemente de las puntuaciones de flexibilidad cognitiva de los donantes humanos, confirmando tanto el efecto perjudicial de los antibióticos como el efecto crucial de la recolonización de la microbiota sobre el rendimiento cognitivo.

Previamente encontramos que la microbiota intestinal de donantes obesos conducía a deterioros en la memoria de trabajo y la memoria a corto plazo. Este deterioro cognitivo se asoció con el metabolismo del triptófano relacionado con la microbiota (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2020a). Otros estudios han demostrado que las arqueas metanógenas se correlacionaban con un mejor rendimiento cognitivo, mientras que la TFM procedente de seres humanos que contenían mayores cantidades del arquea *M. smithii* produjo un mejor control inhibitorio en ratones (Fumagalli et al., 2025). Además, los virus también desempeñan un papel crucial en la función de la microbiota intestinal, ya que niveles más altos de Caudovirales en humanos se asociaron con funciones ejecutivas y memoria verbal mejoradas. De manera interesante, la TFM procedente de donantes humanos con niveles altos de Caudovirales mejoró la memoria a corto plazo y la memoria emocional en ratones (Mayneris-Perxachs et al., 2022b), mientras que la TFM de individuos portadores de *Blastocystis* deterioró la función cognitiva en ratones (Mayneris-Perxachs et al., 2022c). Por el contrario, otro estudio mostró que un microorganismo eucariota encontrado en el intestino, concretamente *Blastocystis*, indujo déficits en la función ejecutiva junto con alteraciones adicionales en la microbiota intestinal. El deterioro cognitivo relacionado con la obesidad se vinculó a la expresión génica del tejido adiposo responsable de la alteración de la función cognitiva (Oliveras-Cañellas et al., 2023). En nuestro estudio, hemos demostrado que el trasplante de microbiota procedente de sujetos obesos (IMC superior a 30) con alta y baja flexibilidad cognitiva mejoró de manera diferencial la memoria a corto y largo plazo en función de la dieta. Específicamente, la TFM procedente de donantes con flexibilidad cognitiva deteriorada mejoró la memoria a corto plazo únicamente en los ratones alimentados con dieta estándar y la memoria a largo plazo en los ratones alimentados con dieta alta en grasas. En contraste, la TFM procedente de donantes con puntuaciones Stroop altas mejoró significativamente la memoria a largo plazo independientemente de la dieta. No se observaron efectos significativos en la memoria de trabajo, que refleja

fuertemente la flexibilidad cognitiva, lo que indica que el rendimiento de la memoria, más que la flexibilidad cognitiva, podría ser modulado por modificaciones de la microbiota. Contrariamente a nuestros hallazgos, un estudio previo demuestra coherencia en los resultados cuando la TFM procedente de humanos obesos con control inhibitorio deteriorado condujo a alteraciones similares en la prueba de inversión (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021), lo que sugiere que podrían realizarse pruebas conductuales más amplias para evaluar la flexibilidad cognitiva y el control inhibitorio en futuros experimentos.

La dieta occidental es un patrón alimentario poco saludable caracterizado por el consumo de alimentos altamente palatables ricos en azúcares y grasas. Debido a su alta palatabilidad, es la principal causa de pérdida de control de la ingesta, obesidad y el desequilibrio microbiano asociado (Burokas et al., 2018; Espinosa-Carrasco et al., 2018; Mancino et al., 2015; Martín-García et al., 2010; Samulénaitė et al., 2024). En este estudio, la exposición a una dieta alta en grasas no indujo un fenotipo obeso en los ratones. Por el contrario, la combinación del tratamiento con antibióticos y la dieta alta en grasas condujo a una disminución significativa del peso corporal. Mientras tanto, los grupos TFM, independientemente del contenido de la microbiota, mostraron un peso corporal intermedio, significativamente mayor que en los ratones tratados con antibióticos, pero menor en comparación con el control alimentado con dieta rica en grasas. Este efecto relacionado con los antibióticos ya había sido descrito (Luo et al., 2023), sugiriendo una explicación de por qué no se obtuvo el fenotipo obeso, a pesar de la ingesta de una dieta alta en grasas. La duración del protocolo y los procedimientos continuos de TFM también podrían haber contribuido al fenotipo sin aumento de peso. Por otro lado, una dieta alta en grasas disminuyó significativamente la ingesta de agua, el número de rearings y la actividad locomotora total, lo cual coincide con estudios previos (Bjursell et al., 2008; Volcko et al., 2020; Yokoyama et al., 2020). La composición de la microbiota también alteró la actividad locomotora. En este sentido, los ratones tratados con antibióticos y alimentados con dieta rica en grasas mostraron un aumento sustancial en la actividad locomotora total y en los rearings, lo cual es coherente con el menor peso corporal de estos ratones. Este aumento en la actividad locomotora fue aliviado por la TFM de donantes con baja flexibilidad cognitiva, pero no por la TFM de donantes con alta flexibilidad cognitiva, aunque se observó una tendencia hacia una menor actividad. A pesar de no observarse diferencias significativas en la ingesta, los ratones alimentados con dieta alta en grasas aumentaron significativamente la ingesta calórica, indicando cambios en la conducta alimentaria asociados a la obesidad. Sin embargo, esto no fue suficiente para alterar el peso corporal. La exposición a alimentos palatables también puede inducir alteraciones en el sistema de recompensa cerebral,

contribuyendo a la pérdida de control de la ingesta (Berding et al., 2021; Martín-García et al., 2011; Requena et al., 2018). De hecho, la palatabilidad de los alimentos es un componente clave en el desarrollo de la adicción a la comida, ya que los ratones mantuvieron un condicionamiento operante estable principalmente cuando la respuesta era reforzada por pellets altamente palatables con sabor a chocolate (García-Blanco et al., 2022). Sin embargo, a pesar del solapamiento entre obesidad y adicción a la comida, se reveló un perfil de microbiota distinto entre mujeres obesas con o sin adicción a la comida (Dong et al., 2020). Además, las funciones ejecutivas suelen estar deterioradas en la adicción a la comida, lo que contribuye a un mayor sobreconsumo. De manera interesante, los individuos obesos también presentan un mal control inhibitorio, que correlaciona positivamente con cambios potencialmente perjudiciales en la microbiota intestinal, mientras que se observaron correlaciones negativas con microbiota beneficiosa tanto en humanos como en ratones (Arnoriaga-Rodríguez et al., 2021; Castells-Nobau et al., 2024; Samulėnaitė et al., 2024).

En resumen, este estudio destaca la interacción entre la alteración de la flexibilidad cognitiva relacionada con la pérdida de control de la ingesta y las alteraciones de la microbiota intestinal. Hemos demostrado que la microbiota desempeña un papel crucial en el rendimiento cognitivo, ya que los ratones con microbiota depletada mediante antibióticos presentaron una memoria a corto y largo plazo sustancialmente deteriorada. Además, la microbiota relacionada con el fenotipo de flexibilidad cognitiva en humanos produce cambios cognitivos importantes mediante la TFM en ratones que dependen de la exposición dietética. Estas respuestas cognitivas están estrechamente relacionadas con la pérdida de control de la ingesta, que conduce al sobrepeso y la obesidad. Considerando la falta de estrategias terapéuticas efectivas para combatir la pérdida de control de la ingesta, nuestros resultados podrían abrir una nueva perspectiva terapéutica para futuras estrategias basadas en la microbiota dirigidas a este trastorno conductual y a sus comorbilidades relacionadas.

A pesar de estos resultados, nuestro estudio presenta ciertas limitaciones. En primer lugar, los grupos control no explican completamente los efectos observados. Otro grupo control con ratones pretratados con antibióticos que recibirían autotrasplante y un grupo experimental adicional que recibiera TFM de un donante con control inhibitorio intermedio podrían proporcionar más explicaciones para los resultados obtenidos. Además, utilizamos únicamente ratones machos en nuestro estudio, aunque los donantes humanos eran de ambos sexos. Finalmente, podrían implementarse más pruebas conductuales para investigar la flexibilidad cognitiva en ratones y obtener una mejor comprensión de cómo la microbiota intestinal afecta a la flexibilidad cognitiva.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el “Ministerio de Ciencia e Innovación y Agencia Estatal de Investigación” (#PID2020-120029GB-I00/MICIN/AEI/10.13039/501100011033) y (FPU20/05652), la “Generalitat de Catalunya, AGAUR” (#2021 SGR 00912), el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (proyecto n° 01.2.2-LMT-K-718-03-0099) bajo un acuerdo de subvención con el Consejo de Investigación de Lituania (LMTLT), “ICREA-Acadèmia” (#2020), el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII, Madrid, España) a través del proyecto PI20/01090 (cofinanciado por la Unión Europea en el marco del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) “Una manera de hacer Europa”).

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## Referencias

- Alboni, S., Micioni Di Bonaventura, M. V., Benatti, C., Giusepponi, M. E., Brunello, N. y Cifani, C. (2017). Hypothalamic expression of inflammatory mediators in an animal model of binge eating. *Behavioural Brain Research*, 320, 420–430. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2016.10.044>
- Arnoriaga-Rodríguez, M., Mayneris-Perxachs, J., Burokas, A., Contreras-Rodríguez, O., Blasco, G., Coll, C., Biarnés, C., Miranda-Olivos, R., Latorre, J., Moreno-Navarrete, J. M., Castells-Nobau, A., Sabater, M., Palomo-Buitrago, M. E., Puig, J., Pedraza, S., Gich, J., Pérez-Brocal, V., Ricart, W., Moya, A.,... Fernández-Real, J. M. (2020a). Obesity Impairs Short-Term and Working Memory through Gut Microbial Metabolism of Aromatic Amino Acids. *Cell Metabolism*, 32(4), 548-560.e7. <https://doi.org/10.1016/J.CMET.2020.09.002>
- Arnoriaga-Rodríguez, M., Mayneris-Perxachs, J., Burokas, A., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Portero-Otin, M., Ricart, W., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2020b). Gut bacterial ClpB-like gene function is associated with decreased body weight and a characteristic microbiota profile. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00837-6>
- Arnoriaga-Rodríguez, M., Mayneris-Perxachs, J., Contreras-Rodríguez, O., Burokas, A., Ortega-Sanchez, J. A., Blasco, G., Coll, C., Biarnés, C., Castells-Nobau, A., Puig, J., Garre-Olmo, J., Ramos, R., Pedraza, S., Brugada, R., Vilanova, J. C., Serena, J., Barretina, J., Gich, J., Pérez-Brocal, V.,... Fernández-Real, J. M. (2021). Obesity-Associated Deficits in Inhibitory Control Are Phenocopied to Mice through Gut Microbiota Changes in One-Carbon and Aromatic Amino Acids Metabolic Pathways. *Gut*, 0, 26. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323371>
- Berding, K., Vlckova, K., Marx, W., Schellekens, H., Stanton, C., Clarke, G., Jacka, F., Dinan, T. G. y Cryan, J. F. (2021). Diet and the Microbiota–Gut–Brain Axis: Sowing the Seeds

- of Good Mental Health. *Advances in Nutrition*, 12(4), 1239. <https://doi.org/10.1093/ADVANCES/NMAA181>
- Bjursell, M., Gerdin, A. K., Lelliott, C. J., Egencioglu, E., Elm-gren, A., Törnell, J., Oscarsson, J. y Bohlooly-Y, M. (2008). Acutely reduced locomotor activity is a major contributor to Western diet-induced obesity in mice. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 294(2), 251–260. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00401.2007/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH10010852180006.JPG>
- Bocarsly, M. E., Fasolino, M., Kane, G. A., Lamarca, E. A., Kirschen, G. W., Karatsoreos, I. N., McEwen, B. S. y Gould, E. (2015). Obesity diminishes synaptic markers, alters Microglial morphology, and impairs cognitive function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(51), 15731–15736. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1511593112/SUPPL\\_FILE/PNAS.1511593112.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1511593112/SUPPL_FILE/PNAS.1511593112.SAPP.PDF)
- Burokas, A., Martín-García, E., Espinosa-Carrasco, J., Erb, I., McDonald, J., Notredame, C., Dierssen, M. y Maldonado, R. (2018). Extinction and reinstatement of an operant responding maintained by food in different models of obesity. *Addiction Biology*, 23(2), 544–555. <https://doi.org/10.1111/ADB.12597>
- Burokas, A., Martín-García, E., Gutiérrez-Cuesta, J., Rojas, S., Herance, J. R., Gispert, J. D., Serra, M. Á. y Maldonado, R. (2014). Relationships between serotonergic and cannabinoid system in depressive-like behavior: A PET study with [11C]-DASB. *Journal of Neurochemistry*, 130(1), 126–135. <https://doi.org/10.1111/JNC.12716>
- Castells-Nobau, A., Puig, I., Motger-Albertí, A., de la Vega-Corra, L., Rosell-Díaz, M., Arnoriaga-Rodríguez, M., Escrichs, A., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Ramió-Torrentà, L., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Pamplona, R., Jové, M., Sol, J., Martín-García, E., Martínez-García, M., Deco, G.,... Mayneris-Perxachs, J. (2024). Microviridae bacteriophages influence behavioural hallmarks of food addiction via tryptophan and tyrosine signalling pathways. *Nature Metabolism*. <https://doi.org/10.1038/S42255-024-01157-X>
- Cheke, L. G., Simons, J. S. y Clayton, N. S. (2016). Higher body mass index is associated with episodic memory deficits in young adults. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* (2006), 69(11), 2305. <https://doi.org/10.1080/17470218.2015.1099163>
- Chen, L., Guo, L., Feng, S., Wang, C., Cui, Z., Wang, S., Lu, Q., Chang, H., Hang, B., Snijders, A. M., Mao, J. H., Lu, Y. y Ding, D. (2023). Fecal microbiota transplantation ameliorates type 2 diabetes via metabolic remodeling of the gut microbiota in db/db mice. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 11(3), e003282. <https://doi.org/10.1136/BMJ-DRC-2022-003282>
- Chen, Y., Zhou, J. y Wang, L. (2021). Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2021.625913/FULL>
- DiSabato, D. J., Quan, N. y Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: The Devil is in the Details. *Journal of Neurochemistry*, 139(Suppl 2), 136. <https://doi.org/10.1111/JNC.13607>
- Domingo-Rodríguez, L., Ruiz de Azua, I., Domínguez, E., Senabre, E., Serra, I., Kummer, S., Navandar, M., Baddenhausen, S., Hofmann, C., Andero, R., Gerber, S., Navarrete, M., Dierssen, M., Lutz, B., Martín-García, E. y Maldonado, R. (2020). A specific prelimbic-nucleus accumbens pathway controls resilience versus vulnerability to food addiction. *Nature Communications*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14458-y>
- Dong, T. S., Mayer, E. A., Osadchiy, V., Chang, C., Katzka, W., Lagishetty, V., Gonzalez, K., Kalani, A., Stains, J., Jacobs, J. P., Longo, V. D. y Gupta, A. (2020). A Distinct Brain-Gut-Microbiome Profile Exists for Females with Obesity and Food Addiction. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 28(8), 1477. <https://doi.org/10.1002/OBY.22870>
- El-Sayed, A., Aleya, L. y Kamel, M. (2021). Microbiota's role in health and diseases. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28(28), 36967. <https://doi.org/10.1007/S11356-021-14593-Z>
- Espinosa-Carrasco, J., Burokas, A., Fructuoso, M., Erb, I., Martín-García, E., Gutiérrez-Martos, M., Notredame, C., Maldonado, R. y Dierssen, M. (2018). Time-course and dynamics of obesity-related behavioral changes induced by energy-dense foods in mice. *Addiction Biology*, 23(2), 531–543. <https://doi.org/10.1111/ADB.12595>
- Fumagalli, A., Castells-Nobau, A., Trivedi, D., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Ramió-Torrentà, L., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Swann, J., Martín-García, E., Maldonado, R., Fernández-Real, J. M. y Mayneris-Perxachs, J. (2025). Archaea methanogens are associated with cognitive performance through the shaping of gut microbiota, butyrate and histidine metabolism. *Gut Microbes*, 17(1). <https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2455506>
- García-Blanco, A., Domingo-Rodríguez, L., Cabana-Domínguez, J., Fernández-Castillo, N., Pineda-Cirera, L., Mayneris-Perxachs, J., Burokas, A., Espinosa-Carrasco, J., Arboleya, S., Latorre, J., Stanton, C., Cormand, B., Fernández-Real, J. M., Martín-García, E. y Maldonado, R. (2022). miRNA signatures associated with vulnerability to food addiction in mice and humans. *Journal of Clinical Investigation*, 132(10). <https://doi.org/10.1172/JCI156281>
- Gupta, A., Osadchiy, V. y Mayer, E. A. (2020). Brain-gut-microbiome interactions in obesity and food addiction. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 17(11), 655–672. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0341-5>
- Higgs, S. (2015). Social norms and their influence on eating behaviours. *Appetite*, 86, 38–44. <https://doi.org/10.1016/J.APPET.2014.10.021>
- Higgs, S. (2016). Cognitive processing of food rewards. *Appetite*, 104, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.10.003>
- Higgs, S., Williamson, A. C., Rotshtein, P. y Humphreys, G. W. (2008). Sensory-Specific Satiety Is Intact in Amnesics Who

- Eat Multiple Meals. *Psychological Science*, 19(7), 623–628. <https://doi.org/10.1111/J.1467-9280.2008.02132.X>
- Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J. y Chen, Z. S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2022 7:1, 7(1), 1–28. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>
- Hrncir, T. (2022). Gut Microbiota Dysbiosis: Triggers, Consequences, Diagnostic and Therapeutic Options. *Microorganisms*, 10(3), 578. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10030578>
- Hussain, S. S. y Bloom, S. R. (2013). The regulation of food intake by the gut-brain axis: Implications for obesity. *International Journal of Obesity* (2005), 37(5), 625–633. <https://doi.org/10.1038/IJO.2012.93>
- Kearns, R. (2024). Gut–Brain Axis and Neuroinflammation: The Role of Gut Permeability and the Kynurenine Pathway in Neurological Disorders. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2024 44:1, 44(1), 1–18. <https://doi.org/10.1007/S10571-024-01496-Z>
- Kelly, J. R., Borre, Y., O’ Brien, C., Patterson, E., El Aidy, S., Deane, J., Kennedy, P. J., Beers, S., Scott, K., Moloney, G., Hoban, A. E., Scott, L., Fitzgerald, P., Ross, P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J. F. y Dinan, T. G. (2016). Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 82, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.07.019>
- Kloock, S., Ziegler, C. G. y Dischinger, U. (2023). Obesity and its comorbidities, current treatment options and future perspectives: Challenging bariatric surgery? *Pharmacology & Therapeutics*, 251, 108549. <https://doi.org/10.1016/J.PHARM-THERA.2023.108549>
- Liang, F., Lu, X., Deng, Z., Zhong, H. J., Zhang, W., Li, Q., Zhou, H. H., Liou, Y. L. y He, X. X. (2022). Effect of Washed Microbiota Transplantation on Patients With Dyslipidemia in South China. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2022.827107>
- López-Taboada, I., González-Pardo, H. y Conejo, N. M. (2020). Western Diet: Implications for Brain Function and Behavior. *Frontiers in Psychology*, 11, 23. <https://doi.org/10.3389/FPSYG.2020.564413>
- Luo, S., Zhang, H., Jiang, X., Xia, Y., Tang, S., Duan, X., Sun, W., Gao, M., Chen, C., Zou, Z., Zhou, L. y Qiu, J. (2023). Antibiotics administration alleviates the high fat diet-induced obesity through altering the lipid metabolism in young mice. *Lipids*, 58(1), 19–32. <https://doi.org/10.1002/LIPD.12361>
- Magnusson, K. R., Hauck, L., Jeffrey, B. M., Elias, V., Humphrey, A., Nath, R., Perrone, A. y Bermudez, L. E. (2015). Relationships between diet-related changes in the gut microbiome and cognitive flexibility. *Neuroscience*, 300, 128–140. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.016>
- Mancino, S., Burokas, A., Gutiérrez-Cuesta, J., Gutiérrez-Martos, M., Martín-García, E., Pucci, M., Falconi, A., D’Addario, C., Maccarrone, M. y Maldonado, R. (2015). Epigenetic and Proteomic Expression Changes Promoted by Eating Addictive-Like Behavior. *Neuropsychopharmacology* 2015 40:12, 40(12), 2788–2800. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.129>
- Martín-García, E., Burokas, A., Kostrzewa, E., Gieryk, A., Korostynski, M., Ziolkowska, B., Przewlocka, B., Przewlocki, R. y Maldonado, R. (2011). New operant model of reinstatement of food-seeking behavior in mice. *Psychopharmacology*, 215(1), 49–70. <https://doi.org/10.1007/S00213-010-2110-6>
- Martín-García, E., Burokas, A., Martín, M., Berrendero, F., Rubí, B., Kiesselbach, C., Heyne, A., Gispert, J. D., Millán, O. y Maldonado, R. (2010). Central and peripheral consequences of the chronic blockade of CB1 cannabinoid receptor with rimonabant or taranabant. *Journal of Neurochemistry*, 112(5), 1338–13351. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2009.06549.X>
- Mayneris-Perxachs, J., Arnoriaga-Rodríguez, M., Luque-Córdoba, D., Priego-Capote, F., Pérez-Brocal, V., Moya, A., Burokas, A., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2020). Gut microbiota steroid sexual dimorphism and its impact on gonadal steroids: Influences of obesity and menopausal status. *Microbiome*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00913-x>
- Mayneris-Perxachs, J., Castells-Nobau, A., Arnoriaga-Rodríguez, M., Martín, M., de la Vega-Correa, L., Zapata, C., Burokas, A., Blasco, G., Coll, C., Escrichs, A., Biarnés, C., Moreno-Navarrete, J. M., Puig, J., Garre-Olmo, J., Ramos, R., Pedraza, S., Brugada, R., Vilanova, J. C., Serena, J.,... Fernández-Real, J. M. (2022a). *Microbiota alterations in proline metabolism impact depression*. 34(5), 681-701.e10. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35508109/>
- Mayneris-Perxachs, J., Castells-Nobau, A., Arnoriaga-Rodríguez, M., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Martínez-Hernández, F., Burokas, A., Coll, C., Moreno-Navarrete, J. M., Zapata-Tona, C., Pedraza, S., Pérez-Brocal, V., Ramió-Torrentà, L., Ricart, W., Moya, A., Martínez-García, M., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2022b). Caudovirales bacteriophages are associated with improved executive function and memory in flies, mice, and humans. *Cell Host & Microbe*, 30(3), 340-356.e8. <https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2022.01.013>
- Mayneris-Perxachs, J., Arnoriaga-Rodríguez, M., Garre-Olmo, J., Puig, J., Ramos, R., Trelis, M., Burokas, A., Coll, C., Zapata-Tona, C., Pedraza, S., Pérez-Brocal, V., Ramió, L., Ricart, W., Moya, A., Jové, M., Sol, J., Portero-Otin, M., Pamplona, R., Maldonado, R. y Fernández-Real, J. M. (2022c). Presence of Blastocystis in gut microbiota is associated with cognitive traits and decreased executive function. *The ISME Journal*, 16(9), 2181–2197. <https://doi.org/10.1038/S41396-022-01262-3>
- Megur, A., Daliri, E. B. M., Baltriukienė, D. y Burokas, A. (2022). Prebiotics as a Tool for the Prevention and Treatment of Obesity and Diabetes: Classification and Ability to

- Modulate the Gut Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11). <https://doi.org/10.3390/IJMS23116097>
- Moore, C. F., Sabino, V., Koob, G. F. y Cottone, P. (2017). Pathological Overeating: Emerging Evidence for a Compulsivity Construct. *Neuropsychopharmacology*, 42(7), 1375–1389. <https://doi.org/10.1038/npp.2016.269>
- Nicolas, S., Dohm-Hansen, S., Lavelle, A., Bastiaanssen, T. F. S., English, J. A., Cryan, J. F. y Nolan, Y. M. (2024). Exercise mitigates a gut microbiota-mediated reduction in adult hippocampal neurogenesis and associated behaviours in rats. *Translational Psychiatry*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/S41398-024-02904-0>
- Oliveras-Cañellas, N., Castells-Nobau, A., de la Vega-Correa, L., Latorre-Luque, J., Motger-Albertí, A., Arnoriaga-Rodríguez, M., Garre-Olmo, J., Zapata-Tona, C., Coll-Martínez, C., Ramió-Torrentà, L., Moreno-Navarrete, J. M., Puig, J., Villarroja, F., Ramos, R., Casadó-Anguera, V., Martín-García, E., Maldonado, R., Mayneris-Perxachs, J. y Fernández-Real, J. M. (2023). Adipose tissue coregulates cognitive function. *Science Advances*, 9(32). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ADG4017>
- Penzenstadler, L., Soares, C., Karila, L. y Khazaal, Y. (2019). Systematic Review of Food Addiction as Measured with the Yale Food Addiction Scale: Implications for the Food Addiction Construct. *Current Neuropharmacology*, 17(6), 526. <https://doi.org/10.2174/1570159X16666181108093520>
- Qiu, B., Liang, J. X. y Li, C. (2023). Effects of fecal microbiota transplantation in metabolic syndrome: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLOS ONE*, 18(7), e0288718. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0288718>
- Requena, T., Martínez-Cuesta, M. C. y Peláez, C. (2018). Diet and microbiota linked in health and disease. *Food & Function*, 9(2), 688–704. <https://doi.org/10.1039/C7FO01820G>
- Samulėnaitė, S., García-Blanco, A., Mayneris-Perxachs, J., Domingo-Rodríguez, L., Cabana-Domínguez, J., Fernández-Castillo, N., Gago-García, E., Pineda-Cirera, L., Burokas, A., Espinosa-Carrasco, J., Arbolea, S., Latorre, J., Stanton, C., Hosomi, K., Kunisawa, J., Cormand, B., Fernández-Real, J. M., Maldonado, R. y Martín-García, E. (2024). Gut microbiota signatures of vulnerability to food addiction in mice and humans. *Gut*, [gutjnl-2023-331445](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2023-331445). <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2023-331445>
- Song, S., Li, Q., Jiang, Y., Liu, Y., Xu, A., Liu, X. y Chen, H. (2022). Do Overweight People Have Worse Cognitive Flexibility? Cues-Triggered Food Craving May Have a Greater Impact. *Nutrients*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/NU14020240>
- Underwood, E. L. y Thompson, L. T. (2016). A High-Fat Diet Causes Impairment in Hippocampal Memory and Sex-Dependent Alterations in Peripheral Metabolism. *Neural Plasticity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7385314>
- Vendrik, K. E. W., Ooijevaar, R. E., de Jong, P. R. C., Laman, J. D., van Oosten, B. W., van Hilten, J. J., Ducarmon, Q. R., Keller, J. J., Kuijper, E. J. y Contarino, M. F. (2020). Fecal Microbiota Transplantation in Neurological Disorders. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 98. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2020.00098/FULL>
- Vijaya, A. K., Kuras, S., Šimoliūnas, E., Mingaila, J., Makovskytė, K., Buišas, R., Daliri, E. B. M., Meškys, R., Baltrukienė, D. y Burokas, A. (2024). Prebiotics Mitigate the Detrimental Effects of High-Fat Diet on memory, anxiety and microglia functionality in Ageing Mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 122, 167–184. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2024.08.022>
- Volcko, K. L., Carroll, Q. E., Brakey, D. J. y Daniels, D. (2020). HIGH-FAT DIET ALTERS FLUID INTAKE WITHOUT REDUCING SENSITIVITY TO GLUCAGON-LIKE PEPTIDE-1 RECEPTOR AGONIST EFFECTS. *Physiology & Behavior*, 221, 112910. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2020.112910>
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojärvi, J., Kootte, R. S., Bartelsman, J. F. W. M., Dallinga-Thie, G. M., Ackermans, M. T., Serlie, M. J., Oozeer, R., Derrien, M., Druesne, A., Van Hylckama Vlieg, J. E. T., Bloks, V. W., Groen, A. K., Heilig, H. G. H. J., Zoetendal, E. G., Stroes, E. S., De Vos, W. M., ... Nieuwdorp, M. (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 143(4). <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2012.06.031>
- World Health Organisation. *Obesity and overweight*. (2022). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Wu, Z., Zhang, B., Chen, F., Xia, R., Zhu, D., Chen, B., Lin, A., Zheng, C., Hou, D., Li, X., Zhang, S., Chen, Y. y Hou, K. (2023). Fecal microbiota transplantation reverses insulin resistance in type 2 diabetes: A randomized, controlled, prospective study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1089991. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2022.1089991/FULL>
- Yarullina, D., Novoselova, V., Alexandrova, A., Arslanova, A., Yakovleva, O., Shaidullov, I., Nikolaev, Y., El-Registan, G., Kudrin, V. y Sitdikova, G. (2024). Probiotic Lactobacilli Ameliorate Antibiotic-Induced Cognitive and Behavioral Impairments in Mice. *Microbiology Research* 2024, Vol. 15, Pages 1471–1485, 15(3), 1471–1485. <https://doi.org/10.3390/MICROBIOLRES15030099>
- Yokoyama, Y., Nakamura, T. J., Yoshimoto, K., Ijyuin, H., Tachikawa, N., Oda, H., Shiraishi, R., Shinohara, K., Kumadaki, K., Honda, S., Nakamura, A., Kitamura, N., Tsubota, K. y Watanabe, M. (2020). A high-salt/high fat diet alters circadian locomotor activity and glucocorticoid synthesis in mice. *PLoS One*, 15(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0233386>