

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA  
VPLIV OSI MIKROBIOTA-ČREVESJE-MOŽGANI NA  
DUŠEVNE MOTNJE IN MODULACIJA OSI KOT  
TERAPEVTSKI POTENCIAL

UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN  
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Vpliv osi mikrobiota-črevesje-možgani na duševne motnje in  
modulacija osi kot terapevtski potencial**

(Effect of microbiota-gut-brain axis on mental disorders and its modulation as  
therapeutic potential)

Ime in priimek: Maša Primožič  
Študijski program: Biopsihologija  
Mentor: prof. dr. Gorazd Drevenšek

Koper, junij 2019

## Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Maša PRIMOŽIČ

Naslov zaključne naloge: Vpliv osi mikrobiota-črevesje-možgani na duševne motnje in modulacija osi kot terapevtski potencial

Kraj: Koper

Leto: 2019

Število listov: 42

Število slik: 3

Število tabel: 2

Število referenc: 76

Mentor: prof. dr. Gorazd Drevenšek

Ključne besede: črevesna mikrobiota, stres, duševne motnje, depresija, tesnoba, psihobiotiki, fekalna mikrobiotska transplantacija

Izveček: Zadnje desetletje v ospredje prihaja nova paradigma, ki temelji na povezavi med možgani in črevesjem in se je izkazala za ključno pri ohranjanju zdravja možganov in stresnega odziva. Glavni regulator te osi je črevesna mikrobiota, sestavljena iz trilijonov mikroorganizmov, ki komunicirajo drug z drugim in s človeškim gostiteljem. Črevesna mikrobiota opravlja številne metabolične funkcije in vpliva na možgane ter vedenje preko osi mikrobiota-črevesje-možgani. Slednja predstavlja dvosmerno komunikacijo med osrednjim živčnim sistemom in prebavnim traktom. Sestavljena je iz več poti – avtonomnega živčevja, imunskega sistema, neuroendokrinega sistema, živčnih prenašalcev in mikrobskih metabolitov. Velik del raziskav s tega področja se osredotoča na duševne motnje. Med njimi sta najpogostejši depresija in tesnoba, ki ju lahko obravnavamo kot s stresom povezani motnji. Črevesni mikrobi lahko vplivajo na hipotalamično-hipofizno-adrenalno os, ki je eden izmed nevrobioloških mehanizmov teh motenj, na stresni odziv in posledično na delovanje možganov in vedenje. Z obravnavanjem teh mehanizmov preko črevesne mikrobiote se odpirajo nove potencialne terapevtske tarče za zdravljenje depresije in tesnobnosti. Najobetavnejša načina modulacije mikrobiote s terapevtskim namenom so psihobiotiki in fekalna mikrobiotska transplantacija. Psihobiotiki predstavljajo zunanje intervencije, kot so vnos probiotikov in prebiotikov, prehrana in telovadba, ki povzročijo pozitivne spremembe v duševnem zdravju preko modulacije črevesnega mikrobioma. Fekalna mikrobiotska transplantacija pa po drugi strani predstavlja modulacijo črevesne

mikrobiote z vnosom fekalne mikrobiote ustreznega darovalca v prejemnika. Gre za dve obetavni terapevtski možnosti, ki pa sta zaenkrat še v povojih.

### Key words documentation

Name and SURNAME: Maša PRIMOŽIČ

Title of the final project paper: Effect of microbiota-gut-brain axis on mental disorders and its modulation as therapeutic potential

Place: Koper

Year: 2019

Number of pages: 42

Number of figures: 3

Number of tables: 2

Number of references: 76

Mentor: Prof. Gorazd Drevenšek, PhD

Keywords: gut microbiota, stress, mental disorders, depression, anxiety, psychobiotics, fecal microbiota transplantation

Abstract: For the last decade a new paradigm, based on the connection between the brain and the gut, has been emerging. Its main regulator is the gut microbiota, which is composed out of trillions of microorganisms that communicate with each other and its human host. The gut microbiota is involved in multiple metabolic functions and affects the brain and behavior through the microbiota-gut-brain axis. The axis is composed out of several different pathways – autonomic nervous system, immune system, neuroendocrine system, neurotransmitters and microbial metabolites. A large part of research in this field is focusing on mental disorders. The most common mental disorders are depression and anxiety, which can be understood through stress as stress-related disorders. Gut microbes can modulate the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, which is one of the neurobiological mechanisms underlying these disorders, stress response and consequently our brain and behavior. Through a new understanding of these mechanisms by the means of gut microbiota, new potential therapeutic targets are arising. The most prominent are psychobiotics and fecal microbiota transplantation. Psychobiotics are a form of external intervention that can include probiotics, prebiotics, diet and exercise, that cause positive changes in mental health through the modulation of the gut microbiome. On the other hand fecal microbiota transplantation is a form of gut microbiota modulation through introduction of donor fecal microbiota. Both approaches are promising, but still in their infancy.

## **ZAHVALA**

Hvala družini in prijateljem, ki so mi stali ob strani med pisanjem zaključne naloge in so še bolj od mene veseli, da je končno dokončana. Brez vas bi jo še zdaj pisala.

Hvala mentorju, ki mi je pustil, da sledim svojim interesom in mi omogočil, da jih z njegovo pomočjo še poglobim.

## KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
2	MIKROBIOTA.....	2
2.1	Kako in zakaj smo bakterije in ljudje povezani? .....	2
2.1.1	Interakcija med bakterijami in imunskim sistemom.....	2
2.2	Črevesna mikrobiota .....	4
2.2.1	Razvoj in sestava človeške črevesne mikrobiote.....	5
2.2.2	Vpliv črevesne mikrobiote na človeški metabolizem.....	7
3	MIKROBIOTA IN MOŽGANI.....	10
3.1	Os mikrobiota-črevesje-možgani .....	10
3.1.1	Avtonomno živčevje in mikrobi .....	11
3.1.2	Vpliv bakterij na imunski sistem .....	11
3.1.3	Vpliv bakterij na nevroendokrini sistem .....	12
3.1.4	Bakterije in živčni prenašalci .....	13
3.1.5	Mikrobni metaboliti .....	14
4	DUŠEVNE MOTNJE IN MIKROBIOTA .....	15
4.1	Depresija, tesnoba in mikrobiota .....	15
4.1.1	Stres in stresni odziv .....	16
4.1.2	Stres, s stresom povezane motnje in mikrobiota .....	19
5	TERAPEVTSKI POTENCIAL .....	21
5.1	Psihobiotiki .....	21
5.2	Fekalna mikrobiotska transplantacija .....	23
6	ZAKLJUČEK .....	25
7	LITERATURA IN VIRI.....	26

## **KAZALO TABEL**

Tabela 1. Prevladujoči bakterijski rodovi glede na način poroda.....	6
Tabela 2. Bakterije, ki proizvajajo določene živčne prenašalce.....	13



## KAZALO SLIK IN GRAFIKONOV

<i>Slika 1.</i> Plasti črevesja (Jaladanki in Wang, 2017).....	4
<i>Slika 2.</i> Dvosmerne poti komunikacije med možgani, črevesjem in mikrobioto. Te poti vključujejo živec vagus, hipotalamično-hipofizno-adrenalno os, citokine, ki jih proizvaja imunski sistem, metabolizem triptofana in produkcijo kratkoverižnih maščobnih kislin (Dinan, Stilling, Stanton in Cryan, 2015).....	10
<i>Slika 3.</i> Procesi v kaskadi HPA osi. Stresor povzroči sproščanje CRH v prednjo hipofizo preko portalnega pleksusa. To povzroči sproščanje ACTH v sistemski obtok, kjer promovira sintezo in sproščanje glukokortikoidov (Herman idr., 2016). .....	18

## SEZNAM KRATIC

ACh – acetilholin  
ACTH – adrenokortikotropni hormon  
ANS – avtonomni živčni sistem  
APC – celice za predstavitev antigena  
CNS – osrednji živčni sistem  
CRF – kortikotropin sproščujoči dejavnik  
DA – dopamin  
DNK – deoksiribonukleinska kislina  
ENS – enterični živčni sistem  
FMT – fekalna mikrobiotska transplantacija  
FOS – frukto-oligosaharidi  
GABA – gama-aminobutirična kislina  
GALT – s črevesjem povezana limfoidna tkiva  
GF – »germ free«  
GI – gastrointestinalni (trakt)  
HPA os – hipotalamična-hipofizna-adrenalna os  
IBS – sindrom razdražljivega črevesja  
LC – locus coeruleus  
NA – noradrenalin  
NPY – neuropeptid Y  
PRR – receptorji, ki prepoznavajo vzorce  
PVN – paraventrikularni nukleus  
SCFA – kratkoverižne maščobne kisline  
SNS – simpatični živčni sistem  
TLR – Tollu podobni receptorji  
5-HT – serotonin

## 1 UVOD

Veliko ljudi ne ve, da je bil prvi antidepresiv v resnici antibiotik. Isoniazid je antibakterijsko zdravilo, ki so ga razvili v 50. letih prejšnjega stoletja za zdravljenje tuberkuloze (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Njegovi nepričakovani stranski učinki (evforija, psihostimulacija, povečan apetit, boljše spanje) so vzbudili interes za njegovo uporabo kot potencialno zdravilo za zdravljenje depresije. S kliničnimi študijami so njegovo antidepresivno delovanje pripisali njegovi sposobnosti zaviranja encimov monoaminske oksidaze, s čimer se je v možganih povečala količina monoaminov (noradrenalin, serotonin in dopamin) (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Posledica tega je bila postavitvev monoaminske hipoteze depresije, na kateri še danes temeljijo farmakološka zdravljenja pogostih duševnih motenj (Dinan in Cryan, 2016). Takrat ni nihče pomislil, da bi bilo lahko antimikrobno delovanje zdravila tisto, ki je pripomoglo k antidepresivnemu delovanju (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Več kot šestdeset let kasneje pa se z novim razumevanjem mikrobioma, ki se navezuje na vse organizme in genetski material, prisoten v človeškem telesu (Khanna in Tosh, 2014, po Gulas, Wysiadecki, Strzelecki, Gawlik-Kotelnicka in Polguy, 2018), nezavedno vračamo na sam začetek s pojavom nove paradigme, ki temelji na povezavi med možgani, črevesjem in mikrobioto (Dinan in Cryan, 2016).

Odkrivanje povezave med črevesnim mikrobiomom in osrednjim živčnim sistemom predstavlja spremembo paradigme v nevroznanosti, kar vpliva na naše razumevanje patofiziologije s stresom povezanih motenj in njihovega zdravljenja (Kelly, Kennedy, Cryan, Dinan, Clarke in Hyland, 2015). Novo razumevanje teh motenj je še posebno pomembno, saj sta depresija in tesnoba najpogostejši s stresom povezani motnji, njuna pojavnost pa vsako leto globalno narašča. Poleg tega veliko posameznikov, ki trpijo za temi duševnimi motnjami, ne poišče pomoči in zdravljenja ali pa se ne odziva na tradicionalne oblike zdravljenja (Rieder, Wisniewski, Alderman in Campbell, 2017).

V zaključni nalogi želimo raziskati odnos med ljudmi in bakterijami, spoznati črevesno mikrobioto, njeno delovanje in načine, s katerimi vpliva na črevesje in možgane. To želimo nato preslikati v okolje duševnih motenj, predvsem na tesnoba in depresijo ter raziskati nove terapevtske potenciale, ki temeljijo na mikrobioti.

## **2 MIKROBIOTA**

Človeško telo je odličen gojitelj kultur, saj jim zagotavlja hranila in okolje, ki spodbujajo rast številnih različnih mikroorganizmov. Te mikrobske vrste sestavljajo človeško mikrobioto (Jorth idr., 2014, po Villanueva-Millán, Pérez-Matute in Oteo, 2015). Mikrobiota je definirana kot kolektivna mikrobska skupnost, ki naseljuje določeno okolje in vključuje bakterije, arheobakterije, viruse in nekatere enocelične evkarionte. Njena skupna genomska sestava se imenuje mikrobiom (Morgan, Segata in Huttenhower, 2013, po Villanueva-Millán idr., 2015). Mikrobiota kolonizira vsako površino človeškega telesa, ki je v kakršnemkoli stiku z zunanjim okoljem – mikrobi uspevajo na naši koži, v genitourinarnem, gastrointestinalnem in respiratornem traktu (Hull in Chow, 2007, po Sekirov, Russell, Antunes in Finlay, 2010).

### **2.1 Kako in zakaj smo bakterije in ljudje povezani?**

Iz bakterij so se razvili mitohondriji in kloroplasti evkariontskih celic, kar nakazuje na potencialno aktivno vlogo bakterij pri evoluciji višjih organizmov (Lee in Mazmanian, 2010). Med evolucijo so arheje, protisti in glive večinoma ostali prosto živeči enocelični organizmi, kar so v veliki meri (ne pa v celoti) naredile tudi bakterije – nekatere izmed njih so se povezale z gostitelji. Tako so nastali živalski holobionti – živalski gostitelj in njegove razvite mikrobske skupnosti (Rosenberg in Zilber-Rosenberg, 2013, po Dominguez-Bello idr., 2019).

Ker so večcelični metazoni razvijali vedno bolj kompleksna telesa, so bakterije pridobile sposobnost naseljevanja novih anatomskih niš. Živali so namreč predstavljale stabilno okolje, bogato s hranili, v katerem lahko mikrobi dobro uspevajo. Pri tem je pomembno tudi ohranjanje zdravja gostitelja – komenzalna mikrobiota je tako v zameno pomagala gostitelju s prebavljanjem kompleksnih ogljikovih hidratov in zagotavljanjem nujnih hranil za sesalce (Lee in Mazmanian, 2010). Preko daljšega obdobja interakcij med mikrobskimi agenti in njihovimi gostitelji so se mikrobi adaptirali na novo okolje, kar se je odražalo v mirnem sobivanju, obojestranski koristi in simbiozi (Nikoopour in Singh, 2014).

#### **2.1.1 Interakcija med bakterijami in imunskim sistemom**

Funkcionalno oziroma fiziološko pregrado med človekom in mikrobi predstavlja imunski sistem (Bosch, 2014, po Dominguez-Bello idr., 2019). Simbionti žal niso edini mikrobi, s katerimi se gostitelj srečuje, zato je pomembna naloga gostiteljevega imunskega sistema, da zna razlikovati med simbiotnimi in patogenimi mikrobi (Lee in Mazmanian, 2010). Gostitelji so tako skupaj s svojimi mikrobionti (člani mikrobiote) razvili imunski sistem, ki

preprečuje mikrobsko kolonizacijo v notranjosti telesa. Gostiteljev imunski sistem je razvil kompleksne mehanizme, ki pomagajo identificirati in uničiti invazivne mikrobove ne glede na to, ali so to mikrobionti ali primarni patogeni, ki prečkajo v prepovedana območja (Bosch, 2014, po Dominguez-Bello idr., 2019). Vedno več dokazov nakazuje, da se je prirojeni imunski sistem (antimikrobni peptidi in številni receptorji, ki prepoznavajo vzorce) razvil kot potreba po nadzoru mikrobiote, ki je kolonizirala epitelij (Bosch, 2014, po Dominguez-Bello idr., 2019). Človeški imunski sistem tako omejuje mikrobioto na njeno naravno nišo, in sicer tako na površju našega telesa kot v njegovi notranjosti (Dominguez-Bello idr., 2019).

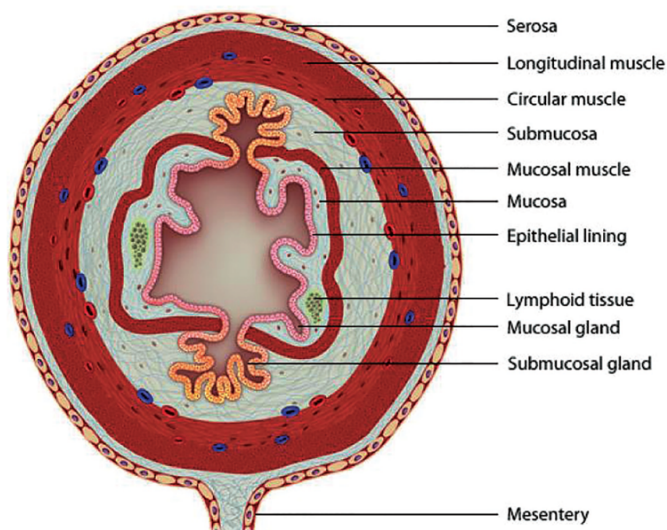
Imunski sistem nas mora hkrati varovati pred patogenimi bakterijami in se izogibati neprimernim imunskim odzivom na komenzalne bakterije (Chai, Zhou in Hsieh, 2014). Bakterije morajo naučiti imunski sistem, da je tolerantan sam do sebe in tako preprečiti avtoimunost (Josefowicz in Rudensky, 2009, po Lathrop idr., 2011). Zaščitna in potencialno škodljiva vloga imunskega odziva za gostitelja je občutljivo ravnotežje. V središču tega ravnotežja so receptorji, ki prepoznavajo vzorce (PRR), kodirane v zarodni liniji (Dai, Liu in Li, 2009). PRR so receptorji, ki prepoznavajo značilne molekularne strukture patogenov in sprožijo prirojeni in neposredni imunski odziv, ki sodeluje tudi pri optimizaciji posledične prilagoditvene odpornosti. Mednje spadajo Tollu podobni receptorji (TLR), Nod in Nodu podobni receptorji, RIG-I podobni receptorji in lektinski receptorji tipa C (Willment in Brown, 2008, po Dai idr., 2009).

Obstajajo številni mehanizmi za preprečevanje avtoimunih odgovorov, med drugim odstranjevanje samoodzivnih T in B celic med njihovo ontogenijo (osrednja toleranca) ter odstranjevanje, zaviranje in regulacija avtoodzivnih celic v perifernih tkivih (periferna toleranca) (Dai idr., 2009), ko so celice še nerazvite in niso sposobne povzročiti imunopatologije (Chai idr., 2014). T celice se razvijejo v priželjcu, kjer so samoodzivne celice ali izločene ali diferencirane v tolerogenične Foxp3<sup>+</sup> regulatorne T (T<sub>reg</sub>) celice (Josefowicz in Rudensky, 2009, po Lathrop idr., 2011). T<sub>reg</sub> celice krožijo po gostiteljevih organih in preverjajo aktivacijo samoodzivnih celic v mirovanju in v stanju okužb (Sakaguchi, 2005, po Dai idr., 2009). Foxp3<sup>+</sup> regulatorne T celice so precej plastične in se lahko diferencirajo v številne podtipe potem, ko se razvijejo v priželjcu. To pomeni, da so zmožne prepoznati okoljske spremembe iz mikrobiote in se nanje prilagoditi (Lee in Mazmanian, 2010). T<sub>reg</sub> izražajo Tollu podobne receptorje, ki so pomemben celični zaviralni mehanizem (Dai idr., 2009). TLR so prisotni na celični membrani imunskih celic in prepoznavajo vzorce bakterijskih celic ter izzovejo produkcijo citokinov (Butler, Cryan in Dinan, 2019). Ta proces se ponavlja, imunski sistem pa dozori zaradi neprestanega odzivanja na različne strukturne komponente bakterijskih celic. Proces je na začetku lociran v črevesnem epiteliju, sčasoma pa se razširi na celotno telo. Posledica tega je

produciranje številnih citokinov ter razvoj limfocitov in pridobljena odpornost na specifične antigene (Akira in Takeda, 2004, po Butler, Cryan in Dinan, 2019).

## 2.2 Črevesna mikrobiota

Prebavni trakt se začne z ustnicami in konča pri anusu. Sestavljen je iz ust, ustne votline z zobmi in jezikom, grla ali žrela, požiralnika, želodca in črevesja, ki se konča z rektumom (Hightower, Sircus, Keeton in Dworken, 2018). Pri sesalcih je črevesje po površini največji sistem (Huo idr., 2017) in posledično predstavlja največje stičišče (250–400m<sup>2</sup>) med gostiteljem, okoljskimi dejavniki in antigeni v človeškem telesu (Bengmark, 1998, po Thursby in Juge, 2017). Črevo sestavljata dva glavna dela – tanko črevo (dolgo približno 6 metrov in 80 centimetrov) in debelo črevo (dolgo približno 1 meter in 80 centimetrov). Tanko črevo se deli na dvanajstnik, jejunum in ileum, ki je z ileocekalno zaklopko povezan z debelim črevesom (Fraile Ovejero in Negri, 1993). Prebavna cev je sestavljena iz več plasti, ki niso povsem ločene, temveč jih povezuje vezno tkivo ter nevralni in vaskularni elementi (Jaladanki in Wang, 2017). Vsi deli gastrointestinalnega (GI) trakta so razdeljeni v štiri plasti: sluznica (epitelij, lamina propria in muscularis mucosae), podsluznica, muscularis propria (notranja krožna mišična plast, medmišični prostor, zunanja vzdolžna mišična plast) in serosa (Jaladanski in Wang, 2017). Plasti so prikazane na spodnji sliki.



Slika 1. Plasti črevesja (Jaladanki in Wang, 2017).

Bakterijska flora se razlikuje vzdolž GI trakta (Canny in McCormick, 2008). V zgornjem GI traktu (želodec, dvanajstnik, jejunum in zgornji ileum) je običajno manj bakterij, debelo črevo pa naseljuje bogata mikroflora. Bakterije najdemo v lumnu, na epitelijskih celicah in na sluznici (Gorbach, 1996).

Črevesno mikrobioto naj bi sestavljalo približno 380 trilijonov mikrobov, kar je štirikratnik števila odraslih človeških celic (Sender, Fuchs in Milo, 2016, po Evrensel, Ünsalver in Ceylan, 2019). V črevesju vsakega posameznika najdemo približno 150 do 400 različnih vrst bakterij (Lloyd-Price, Abu-Ali in Huttenhower, 2016, po Davenport, Sanders, Song, Amato, Clark in Knight, 2017).

Naš odnos s komponentami mikrobiote je pogosto opisan kot komenzalen – eden izmed partnerjev ima korist, na drugega pa ne vpliva (Bäckhed, Ley, Sonnenburg, Peterson in Gordon, 2005). Kljub temu da se uporablja izraz, ki bakterije ne označuje niti za koristne niti za škodljive, je odnos med človekom in bakterijami po večini zelo mutualističen – gostitelj bakterijam omogoča lahek dostop do hrane in zatočišča, bakterije pa mu pomagajo prebavljati kompleksno hrano in sintetizirati ključne metabolite (Cummings in Macfarlane, 1997, po Postler in Ghosh, 2017).

### 2.2.1 Razvoj in sestava človeške črevesne mikrobiote

Kolonizacija dojenčkovega gastrointestinalnega trakta z mikrobi je ključen proces v našem življenjskem ciklu, saj interakcije med mikrobioto in gostiteljem pomembno vplivajo na človekovo zdravje in bolezni (Rodriguez idr., 2015).

Že več kot stoletje prevladuje mnenje, da je placenta med zdravo nosečnostjo pregrada, ki ščiti plod pred bakterijami (Rodriguez idr., 2015). To mišljenje predpostavlja, da je novorojenčkovo črevo sterilno, dokler ga ob rojstvu ne kolonizirajo mikroorganizmi, ki so takrat prisotni v okolju (Aagaard idr., 2014, po Voreades, Kozil in Weir, 2014). Dokazi pa kažejo, da ni tako. Mikroorganizmi naj bi bili namreč prisotni v amniotski tekočini (Romero idr., 2015, po Tanaka in Nakayama, 2017), plodovnih ovojih (Jimenez idr., 2005, po Tanaka in Nakayama, 2017), popkovini (Aagaard idr., 2014, po Tanaka in Nakayama, 2017) in mekoniju (Moles idr., 2013, po Tanaka in Nakayama, 2017). Tudi maternica, placenta, fetus in kri lahko vsebujejo bakterijsko DNK ali celo izolirane žive bakterije. To sicer izpodbija teorijo o sterilnosti, vendar ta prisotnost bakterijske DNK ne predstavlja kolonizacije živeče krvne mikrobiote, zato trenutna paradigma o sterilnosti v imunsko zaščitene organih, še vedno velja (Dominguez-Bello idr., 2019).

Po rojstvu na začetno kolonizacijo in ustalitev mikrobiote vplivajo način poroda (vaginalni porod ali carski rez), vzorci hranjenja, higienski pogoji in vnos antibiotikov (Marques idr., 2010, po Voreades idr., 2014). Pri porodu je novorojenček zaradi bližine porodnega kanala in danke izpostavljen tako vaginalnim kot tudi črevesnim mikrobom (Dominguez-Bello idr., 2019). V vaginalnih mikroboskih skupnosti ob rojstvu prevladujeta rodova *Lactobacillus* in *Prevotella* (Dominguez-Bello idr., 2010, po Krajmalnik-Brown, Ilhan,

Kang in DiBaise, 2012), pri novorojenčkih, rojenih s carskim rezom, pa prevladujejo rodovi *Staphylococcus*, *Corynebacterium* in *Propionibacterium* (Dominguez-Bello idr., po Dinan in Cryan, 2017). Prevladujoči bakterijski rodovi so prikazani v spodnji tabeli.

Tabela 1

Prevladujoči bakterijski rodovi glede na način poroda

Način poroda	Prevladujoči rodovi
Vaginalni porod	<i>Lactobacillus</i> <i>Prevotella</i>
Carski rez	<i>Staphylococcus</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Propionibacterium</i>

Dojenčkov mikrobiom na začetku karakterizira nizka diverziteta vrst in visoka raven bakterijskega pretoka do približno dveh ali treh let starosti (Bergström idr., 2014, po Voreades idr., 2014). Prvi kolonizatorji naj bi bile fakultativne anaerobne bakterije, kot so *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* in *Enterobacteria*. Njihova naloga je, da porabljajo kisik in ustvarjajo okolje, v katerem lahko uspevajo anaerobi (Jost idr., 2012, po Voreades idr., 2014). Kasneje jih zamenjajo fakultativni anaerobi, ki dominirajo v gastrointestinalnem traktu – predvsem debli *Actinobacteria* in *Firmicutes* (Turroni idr., 2012, po Voreades idr., 2014). Do te spremembe naj bi prišlo zaradi dojenja ali hranjenja s formulo, kar nakazuje na prvi kolonizacijski dogodek, povezan s prehrano v dojenčkovem črevesnem mikrobiomu (Jost idr., 2012, po Voreades idr., 2014). Do drugega kolonizacijskega dogodka pride v starosti od enega do dveh let, in sicer zaradi prenehanja dojenja in uvajanja goste hrane, karakterizira pa jo predvsem povečanje vrste *Bacteroidetes*. Naraste tudi število *Firmicutes*, medtem ko se zmanjša število bakterij iz vrst *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* in *Enterobacteriaceae* (Bergström idr., 2014, po Voreades idr., 2014). V obdobju od 18 do 36 mesecev pride do zadnje večje spremembe v črevesnem mikrobiomu, ki je primarno sestavljen iz debel *Bacteroidetes* in *Firmicutes* (Koenig idr., 2011, po Voreades idr., 2014). Pri tej starosti večina bakterijskih skupin doseže stabilnost odrasle mikrobiote, nekatere bakterijske skupine pa potrebujejo dalj časa, da dosežejo to stopnjo (Cheng idr., 2016, po Milani idr., 2017). Do tega velikega premika v črevesni mikrobiotski skupnosti pride zaradi uvedbe goste hrane v otrokovo prehrano (Fallani idr., 2011, po Tanaka in Nakayama, 2017).

Tipičen odrasel mikrobiom primarno sestavlja približno šest ali sedem različnih debel, med katerimi dominirata *Bacteroidetes* in *Firmicutes* (Eckburg idr., 2005, po Voreades idr., 2014). Druga, manj številna debela so *Proteobacteria*, *Verrucomicrobiota*, *Actinobacteria* in *Euryarchaeota*. Študije kažejo, da posameznikovi taksoni skozi čas ostajajo pretežno



stabilni, čeprav je njihova relativna količina dovzetna za spremembe (Faith idr., 2013, po Rodriguez idr., 2015).

S staranjem posameznika upada njegovo zdravstveno stanje, hkrati pa tudi stabilnost in raznolikost njegove črevesne mikrobiote. V primeru, da starostnikovo zdravje ostane nespremenjeno, tudi mikrobiota ohrani stabilnost in strukturo zdravega mlajšega posameznika (Claesson idr., 2012, po Voreades idr., 2014). Mikrobiota ljudi nad 65. letom starosti kaže večjo interindividualno raznolikost kot pri odraslih (Claesson idr., 2012, po Rodriguez idr., 2015). Stoletniki imajo še bolj spremenjeno in manj raznoliko mikrobioto – povečana je količina fakultativnih anaerobov in zmanjšana količina določenih bakterij. Imajo tudi nižje ravni rodov *Bacteroides*, *Bifidobacterium* in *Enterobacteriaceae* ter povečano raven rodu *Clostridium* v primerjavi z mlajšimi starostniki (Drago idr., 2012, po Rodriguez idr., 2015).

## 2.2.2 Vpliv črevesne mikrobiote na človeški metabolizem

Med koevolucijo s človekom so mikrobi, prisotni v gastrointestinalnem traktu, prevzeli številne funkcije, ki jih gostitelj brez njih ni mogel opravljati (Krajmalnik-Brown idr., 2012). Črevesna mikrobiota pomembno prispeva k človeškemu metabolizmu, saj zagotavlja encime, ki jih človeški genom ne kodira – med drugim encime za razgradnjo polisaharidov, polifenolov in za sintezo vitaminov (Rowland idr., 2018). Njeno metabolično delovanje dopolnjuje aktivnost encimov sesalcev v jetrih in črevesni sluznici (Nicholson idr., 2012, po Rowland idr., 2018). Črevesna mikrobiota črpa hranila iz številnih virov, med katere spadajo zaužite prehranske komponente (ogljikovi hidrati, proteini in lipidi) in komponente, ki izhajajo iz gostitelja (odvržene epiteljske celice in sluz) (Ramakrishna, 2013). Iz teh substratov nato proizvede energijo za celične procese in rast, pri tem pa nastanejo številni metaboliti, ki vplivajo na človekovo zdravje in metabolizem (Ramakrishna, 2013). V nadaljevanju si bomo podrobneje pogledali te metabolite.

### 2.2.2.1 Kratkoverižne maščobne kisline

Kratkoverižne maščobne kisline (SCFA – ang. Short Chain Fatty Acids) in nekateri plini (vodik, ogljikov dioksid in metan) so glavni produkti bakterijske fermentacije prehranskih ogljikovih hidratov (Rowland idr., 2018). Nastanejo v debelem črevesju kot posledica bakterijske fermentacije škroba (tudi za ljudi nerazgradljivega), neabsorbiranih sladkorjev, celuloznih in neceluloznih polisaharidov (Macfarlane in Macfarlane, 2003, po Krajmalnik-Brown idr., 2012) ter mucinov (Nakamura, Lin, McSweeney, Mackie in Gaskins, 2010, po Krajmalnik-Brown idr., 2012). Lokalno imajo SCFA veliko funkcij – služijo kot

pomemben vir energije za črevesne epiteljske celice (Topping in Clifton, 2001, po Butler, Cryan in Dinan, 2019), regulirajo energijsko homeostazo (Ichimura idr., 2009, po Butler, Cryan in Dinan, 2019) in neposredno vplivajo na sproščanje gastrointestinalnih signalnih molekul, kot sta peptid YY (Holzer in Farzi, 2014, po Butler, Cryan in Dinan, 2019) in serotonin (Yano idr., 2015, po Butler, Cryan in Dinan, 2019). Te molekule pa ne igrajo samo lokalne vloge, temveč potujejo po celem telesu in delujejo na številne organe (Clarke idr., 2014, po Butler, Cryan in Dinan, 2019). Pomembna mesta delovanja so jetra, ledvice in možgani (Ganapathy idr., 2008, po Butler, Cryan in Dinan, 2019). Tri prevladujoče kratkoverižne maščobne kisline so acetat, propionat in butirrat (Rowland idr., 2018).

#### 2.2.2.2 Polifenoli

Beljakovine v debelem črevesju, ki so izpostavljene mikrobnemu metabolizmu, najpogosteje pridejo iz gostitelja, v manjšem delu pa tudi iz prehrane. Produkt fermentacije beljakovin so aminokisline z razvejano stransko verigo in številni fenolni in drugi metaboliti, ki so lahko škodljivi za gostitelja (Windey, De Preter in Verbeke, 2012, po Ramakrishna, 2013). Ti metaboliti so večinoma razstrupljeni v črevesni steni in jetrih (Ramakrishna idr., 1989, po Ramakrishna, 2013). Preko mikrobnega metabolizma živil v črevesju so polifenoli spremenjeni v številne derivate aromatičnih SCFA, kot sta fenilacetat in fenilbutirat (Bhat in Kapila, 2017). Sodelovali naj bi pri številnih dejavnostih, kot sta preventiva in lajšanje številnih bolezenskih stanj, kot so rak, živčno vnetje, diabetes in staranje (Waldecker idr., 2008, po Bhat in Kapila, 2017). Polifenoli inhibirajo histonsko deacetilazo, stopnja inhibicije pa se med spojinami razlikuje (Bhat in Kapila, 2017).

#### 2.2.2.3 Vitamini

Vitamini so majhne molekule, ključne za osnovno celično delovanje in metabolizem, vse od pretvorbe energije do biosinteze makromolekul (Rajakovich in Balskus, 2019). Kljub njihovi nepogrešljivosti ljudje nimamo sposobnosti sinteze vitaminov *de novo* (Rajakovich in Balskus, 2019). V telesu jih najdemo v obilju, pridobimo jih lahko z vnosom hrane ter transformacije in sinteze drugih snovi, lahko pa tudi s pomočjo črevesnih bakterij (Li idr., 2018). GI mikrobiota je ključna za *de novo* sintezo ključnih vitaminov, ki jih gostitelj sam ni zmožen producirati (LeBlanc idr., 2013, po Thursby in Juge, 2017). Vitamini, ki jih naredijo mikroorganizmi, so večinoma absorbirani v debelem črevesju, medtem ko so vitamini, pridobljeni iz hrane in gostitelja, absorbirani v tankem črevesju (Said in Mohammed, 2011, po Li idr., 2018). Bakterije so glavni proizvajalci vitamina K2 (menakinon) v človeškem telesu (Conly idr., 1994, po Li idr., 2018). Vitamin K2 igra bistveno vlogo v virulentnosti in preživetju nekaterih patogenov (Wakeman idr., 2012, po Li idr., 2018) ter vpliva na fenotipsko izražanje patogenov (Kirby idr., 2014, po Li idr.,

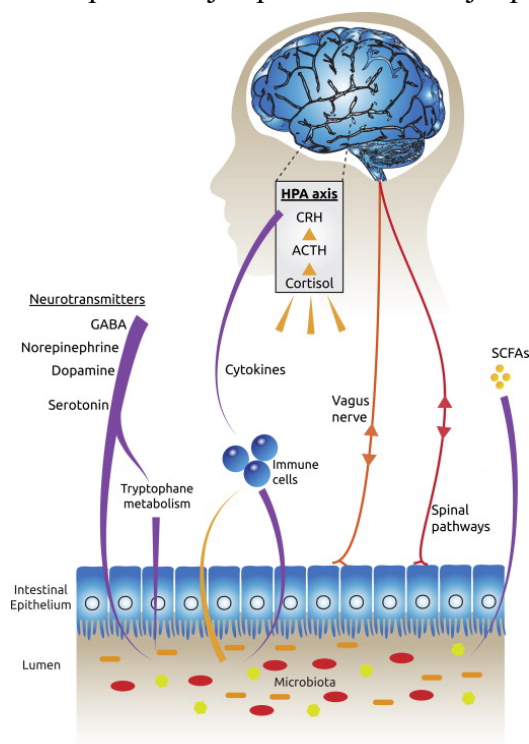
2018). Prav tako črevesne bakterije sintetizirajo vse B vitamine (riboflavin, piridoksin, folacin) (LeBlanc idr., 2013, po Li idr., 2018). Večina članov družine B vitaminov inducira imunski sistem, da prepreči patogeno okužbo (Li idr., 2018).

### 3 MIKROBIOTA IN MOŽGANI

Črevo je največji prebavni, imunski in endokrini organ v človeškem telesu, ki ima tudi lastni živčni sistem (enterični živčni sistem), ki je relativno neodvisen od možganov. Kar 90 %–95 % celotnega števila celic tega organa predstavljajo mikroorganizmi, ki se razvijajo skoraj istočasno z možgani. Posledično črevesna mikrobiota vpliva na razvoj, dozorevanje ter delovanje možganov in uma (Bruce-Keller idr., 2018, po Liang, Wu in Jin, 2018), mehanizmi, preko katerih to poteka, pa so opisani v nadaljevanju.

#### 3.1 Os mikrobiota-črevesje-možgani

Črevesna mikrobiota vpliva na možgane in vedenje preko osi mikrobiota-črevesje-možgani, ki predstavlja dvosmerno komunikacijo med osrednjim živčnim sistemom in prebavnim traktom (Liang idr, 2012, po Liang idr., 2018). Os zajema osrednji živčni sistem (CNS), neuroendokrini in neuroimunski sistem, simpatično in parasimpatično vejo avtonomnega živčnega sistema (ANS), enterični živčni sistem (ENS) in črevesno mikrobioto (Mayer, 2011, po Dinan, Stilling, Stanton in Cryan, 2015). Ta dvosmerna komunikacija poteka preko številnih poti (Dinan in Cryan, 2013, po Dinan idr., 2015), ki so prikazane na spodnji sliki in podrobneje opisane v naslednjih podglavljih.



Slika 2. Dvosmerne poti komunikacije med možgani, črevesjem in mikrobioto. Te poti vključujejo živec vagus, hipotalamično-hipofizno-adrenalno os, citokine, ki jih proizvaja imunski sistem, metabolizem triptofana in produkcijo kratkoverižnih maščobnih kislin (Dinan, Stilling, Stanton in Cryan, 2015).

### 3.1.1 Avtonomno živčevje in mikrobi

Enterični živčni sistem (ENS) je sestavljen iz več milijonov nevronov, ki so prisotni v sluznici GI trakta. Ti nevroni so odgovorni za uravnavanje črevesnega delovanja (De la Fuente-Nunez, Torres Meneguetti, Franco in Lu, 2018). Najbolj neposredna komunikacija med črevesjem in možgani, preko katere lahko mikrobiota komunicira s CNS, predstavlja živec vagus (Quigley, 2017, po Liang idr., 2018). Vagus je deseti kranialni živec AŽS, ki oživčuje žrelo, grlo in visceralne organe (Forsythe, Bienenstock in Kunze, 2014). Sestavljen je iz aferentnega in eferentnega dela (Dinan idr., 2015), pri čemer je razmerje med aferentnimi in eferentnimi tkivi 9 : 1, (Forsythe idr., 2014) ter vsebuje tako motorična kot senzorična vlakna. S od 30.000 do 80.000 aferentnimi vagalnimi živci predstavlja glavno aferentno pot iz trebušne votline do možganov (Browning in Mendelowitz, 2003, po Forsythe idr., 2014).

Mikrobiota lahko pošilja signale preko vagalnega živca do možganov in obratno (Lyte idr., 2006, po Borre, Moloney, Clarke, Dinan in Cryan, 2014). Dokazi iz živalskih študij nakazujejo, da lahko črevesni mikroorganizmi aktivirajo vagus, takšna aktivacija pa igra ključno vlogo v mediiranju učinkov na možgane in posledično tudi na vedenje (Forsythe idr., 2014). V eni izmed študij so bili vedenjski učinki, ki sta jih izzvali dve različni probiotični vrsti pri glodalcih, odvisni od neokrnjene aktivacije živca vagus (Perez-Burgos idr., 2013, po Borre idr., 2014) – po vagotomiji probiotiki niso več povzročili vedenjskih sprememb (Zhu, Han, Du, Liu in Jin, 2017). Poleg tega vagus oživčuje tudi tkiva, povezana z imunskim delovanjem, in organe, ki vsebujejo pomembne imunske elemente (priželjc, pljuča, jetra in prebavni trakt). Vagus lahko zazna vnetje, pošlje aferentne signale v možgane in tako aktivira eferentni odziv, ki sprosti mediatorje, ki preko interakcije z imunskimi celicami zmanjšajo vnetje (Forsythe idr., 2014). V nadaljevanju je podrobneje opisana vloga imunskega sistema v komunikaciji med možgani, črevesjem in mikrobioto.

### 3.1.2 Vpliv bakterij na imunski sistem

Črevesni mikrobi modulirajo zorenje in delovanje imunskih celic v osrednjem živčnem sistemu. Prav tako lahko vplivajo na aktivacijo perifernih imunskih celic, ki regulirajo odzive na nevroinflamacijo, možganske poškodbe, avtoimunost in nevrogenozo (Fung, Olson in Hsiao, 2017).

Črevesje in z njim povezana limfoidna tkiva (GALT – ang. gut-associated lymphatic tissues) so največji imunski organ v človeškem telesu. Služijo kot obrambna pregrada med zunanjimi patogeni in notranjim okoljem (Vighi idr., 2008, po Borre idr., 2014). Po črevesju krožijo različne imunske celice, med drugim T<sub>reg</sub> in celice za prepoznavo antigena

(APC), ki lahko potujejo iz GALT na druga periferna limfoidna mesta, tudi znotraj osrednjega živčnega sistema. Imunske celice, ki nastanejo v črevesju, lahko prečkajo krvno-možgansko pregrado, znotraj CNS pa jih aktivirajo tamkajšnje APC (Diamond idr., 2011, po Borre idr., 2014). Med mikrobioto in prirojenim imunskim sistemom gostitelja obstaja ravnotežje, ki ga porušijo motnje mikrobske sestave. Ko črevesna mikrobiota povzroči vnetje, te celice dobijo dostop do CNS in neposredno povzročijo vnetne odzive. Nizko kronično vnetje povzroči sproščanje citokinov v kri (Kim in Shin, 2018). Aktivacija TLR in posledične spremembe v profilu citokinov lahko vodijo v motnje v vedenju in kogniciji (Borre idr., 2014).

Neposredni učinki črevesne mikrobiote in probiotikov na prirojeni imunski sistem povzročijo spremembe v ravneh pro- in antivnetnih citokinov v obtoku, ki neposredno vplivajo na možgansko delovanje, še posebno v predelih, kot je hipotalamus. Tam namreč interleukin (IL)-1 in IL-6 povzročita močno sproščanje kortikotropin sproščujočega hormona, ki je glavni peptidni regulator HPA osi, ki predstavlja dodatno pot dvosmerne komunikacije (Viswanathen idr., 2013, po Dinan idr., 2015).

### 3.1.3 Vpliv bakterij na neuroendokrini sistem

Črevesje je največji endokrini organ v človeškem telesu in vsebuje več kot 20 različnih vrst enteroendokrinih celic, izraža več kot 30 vrst hormonskih genov s številnimi fenotipi in izloča več kot 100 hormonskih peptidov (Rehfeld, 2014, po Liang idr., 2018). Črevesje komunicira z možgani preko hormonskih signalnih poti, ki vključujejo sproščanje črevesnih peptidov iz enteroendokrinih celic, ki lahko delujejo neposredno na možgane (Wren in Bloom, 2007, po Borre idr., 2014).

Endokrini sistem uravnava celotno telo preko signalnih molekul. Hipotalamus je višji živčni center za regulacijo prebavil in endokrinega delovanja in je ključen pri izločanju hipofiznih hormonov in delovanju avtonomnega živčnega sistema. Hipofiza je najpomembnejša endokrini žleza in je ključna pri uravnavanju homeostaze, saj nadzoruje sintezo številnih ključnih hormonov, ki regulirajo metabolizem, razvoj, razmnoževanje in druge funkcije. Hipotalamus, hipofiza in periferne endokrine žleze sestavljajo neuroendokrini sistem, ki omogoča komunikacijo med možgani in črevesjem (Cusotto idr., 2018, po Liang idr., 2018). Glavna pot neuroendokrinega prenosa je hipotalamična-hipofizna-adrenalna os (HPA os), ki je ključna pri stresnem odzivu. Črevesna mikrobiota je ključna pri njenem razvoju in delovanju (Cox in Weiner, 2018). V odsotnosti mikrobiote pride do nenormalnega razvoja HPA osi, njeno dozorevanje pa lahko normalizira samo kolonizacija v točno določenem obdobju (Keightley idr., 2015, po Liang idr., 2018). Črevesna mikrobiota igra pomembno vlogo tudi pri aktivnosti drugih perifernih endokrinih

žlez, med drugim vpliva na sproščanje spolnih in ščitničnih hormonov (Neuman idr., 2015, po Liang idr., 2018).

Poleg HPA osi so pomemben neuroendokrini način komunikacije tudi črevesni peptidi. Nevropeptidi so tip bioaktivnih peptidov, ki so zelo razširjeni v živčnem sistemu – vključujejo nevropeptid Y (NPY), oksitocin, kalcitonin, vazoaktiven črevesni peptid, somatostatin, kortikotropin sproščujoči dejavnik (CRF) itd. Ti nevropeptidi delujejo kot obveščevalci osi mikrobiota-črevesje-možgani. Nevropeptidi, ki jih sproščajo enterociti, vplivajo na mikrobioto, tisti, ki jih sprošča mikrobiota pa vplivajo na gostitelja (Lach idr., 2017, po Liang idr., 2018). Črevesna mikrobiota regulira tudi koncentracijo in aktivnost črevesnih peptidov/hormonov, med drugim insulin, glukagon, gastrin, holecistokinin in leptin (Lach idr., 2017, po Liang idr., 2018). Pomembna tarča je nevropeptid Y, ki deluje kot nevralni in endokrini obveščevalec in je občutljiv na manipulacijo mikrobiote. Prisoten je na številnih lokacijah v osi mikrobiota-črevesje-možgani in je vpleten v številne funkcije, kot so regulacija počutja, odpornosti na stres in GI motiliteta (Holzer, Reichmann in Farzi, 2012, po Borre idr., 2014).

### 3.1.4 Bakterije in živčni prenašalci

Bakterije imajo sposobnost generiranja številnih nevrotansmitterjev in nevromodulatorjev (Tabela 3.01). Nekatere vrste iz rodu *Lactobacillus* in *Bifidobacterium* proizvajajo gama-aminobutirično kislino (GABA), *Escherichia*, *Bacillus* in *Saccharomyces* proizvajajo noradrenalin (NA), *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* in *Enterococcus* proizvajajo serotonin (5-HT), *Bacillus* dopamin (DA), *Lactobacillus* pa acetilholin (ACh) (Lyte, 2013, po Dinan idr., 2015).

Tabela 2

Bakterije, ki proizvajajo določene živčne prenašalce

Živčni prenašalec	Rodovi bakterij, ki jih proizvajajo
<b>GABA</b>	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i>
<b>NA</b>	<i>Escherichia</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Saccharomyces</i>
<b>5-HT</b>	<i>Candida</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Enterococcus</i>
<b>DA</b>	<i>Bacillus</i>
<b>ACh</b>	<i>Lactobacillus</i>

Opombe: GABA – gama-aminobutirična kislina; NA – noradrenalin, 5-HT – serotonin, DA – dopamin, ACh – acetilholin

Poleg tega lahko nekateri probiotiki modulirajo koncentracije opioidnih in kanabinoidnih receptorjev v črevesnem epiteliju (Rousseaux idr., 2007, po Dinan idr., 2015). Zaenkrat še ni znano, ali so ti mikrobski metaboliti producirani v znatni količini glede na gostiteljevo

produkcijo in ali delujejo lokalno na nivoju črevesja ali so sistemsko preneseni preko krvno-možganske pregrade (Foster idr., 2013, po Cox in Weiner, 2018).

Serotonin (5-HT) deluje kot živčni prenašalec v telesu, in sicer tako v CNS kot v črevesju. Periferni 5-HT je vključen v regulacijo GI izločanja, črevesne motilitete in zaznavanja bolečine (McLean, Borman in Lee, 2007, po Borre idr., 2014), v možganih pa igra pomembno vlogo v razpoloženju in kogniciji (Cryan in Leonard, 2000, po Borre idr., 2014). Sinteza serotonina v možganih je odvisna od dostopnosti njegovega prekursorja triptofana. Gostitelj sam ne more producirati triptofana, zato je za njegovo dostopnost pomemben prehranski vnos beljakovin (Martin, Osadchiy, Kalani in Mayer, 2018). Pri dostopnosti in metabolizmu triptofana igra pomembno vlogo enterična mikrobiota, kar posredno vpliva tudi na količino serotonina v možganih, kinurenina in nevroaktivnih metabolitov (Desbonnet idr., 2008, po Borre idr., 2014).

### 3.1.5 Mikrobni metaboliti

Bakterijski produkti ali metaboliti, kot so zgoraj omenjeni triptofanski metaboliti in kratkoverižne maščobne kisline (SCFA), prehajajo iz črevesne sluznice v sistemski obtok, kjer lahko vplivajo na imunsko uravnavanje in delovanje CNS. SCFA so lahko v interakciji z živčnimi celicami in tako aktivirajo simpatični živčni sistem (Kimura idr., 2013, po Borre idr., 2014). Butirat modulira možgansko delovanje preko inhibicije histonske deacetilaze (Steliou idr., 2012, po Borre idr., 2014). SCFA prepoznajo receptorji enterocitnih in enteroendokrinih celic, kar nakazuje na njihov vpliv na živčni in imunski sistem (Koh idr., 2016, po Liang idr., 2018). Poleg tega lahko prečkajo krvno-možgansko pregrado in regulirajo razvoj možganov, sintezo nevrotansmitterjev ter vplivajo na dozorevanje in delovanje mikroglije (Erny idr., 2015, po Liang idr., 2018). Črevesna mikrobiota producira tudi druge substance iz metabolizma proteinov in aminokislin – amine, fenole, NH<sub>3</sub>, indole, derivate indolov, vodikov sulfid (Agus idr., 2018, po Liang idr., 2018), ki lahko prav tako vplivajo na možgane.



## 4 DUŠEVNE MOTNJE IN MIKROBIOTA

Depresijo ima kar 322 milijonov ljudi, anksiozne motnje pa 264 milijonov – številke, ki z vsakim letom samo še naraščajo (World Health Organization, 2017). Zaskrbljujoče je, da veliko posameznikov, ki trpijo za temi duševnimi motnjami, ne poišče pomoči in zdravljenja ali pa se ne odziva na tradicionalne oblike zdravljenja (antidepresivi, kognitivno-vedenjska terapija ipd.) (Rieder idr., 2017). Zato je pomembno, da te bolezni obravnavamo drugače in iščemo nove načine razumevanja in zdravljenja. Eden izmed teh načinov je črevesna mikrobiota, saj je povezava med črevesnim delovanjem in duševnim zdravjem dobro prepoznana.

### 4.1 Depresija, tesnoba in mikrobiota

Depresija, ki je najpogostejša duševna motnja, je večfaktorska bolezen, ki je lahko posledica bioloških, psiholoških ali socialnih dejavnikov (Uher in McGuffin, 2010, po De la Fuente-Nunez idr., 2018). Njena etiologija sicer še ni znana, vendar korelira s posameznikovo ravno stresa, življenjskim stilom, povzročijo pa jo lahko tudi anksioznost in kronične bolezni (Hirschfeld, 2001, po De la Fuente-Nunez idr., 2018). Med njene simptome spadajo depresivno razpoloženje, pomanjkanje volje za dnevne aktivnosti, zmanjšan apetit, spremembe v spanju in libidu, huda depresija pa je povezana s samopoškodovanjem in samomorilnostjo (Dinan in Cryan, 2015, po De la Fuente-Nunez idr., 2018). Fiziološko se kaže v spremembah HPA osi, imunskega sistema in v psihosomatskih simptomih (Sherwin, Sandhu, Dinan in Cryan, 2016).

Tesnoba (anksioznost) je čustveno stanje, ki ga karakterizira občutek zaskrbljenosti ali strahu (Baxter idr., 2013, po Rieder idr., 2017). Razvije se preko nevralnih, endokrinih in imunoloških mehanizmov. Izpostavljenost stresu lahko izzove anksiozne odzive, kot so aktivacija HPA osi in imunski odzivi (Clarke idr., 2013, po Kim in Shin, 2018). Če občutki anksioznosti ne izginejo in vplivajo na posameznikove vsakodnevne aktivnosti, govorimo o anksioznih motnjah. Anksiozne motnje karakterizirajo vedenjske motnje, fobije, panični sindrom in strah (American Psychiatric Association, 2013, po De la Fuente-Nunez idr., 2018). Sem štejemo tudi socialno fobijo, za katero je značilen strah pred socialnimi situacijami, kar vpliva na posameznikovo družabnost (Parashar in Malairaman, 2016, po De la Fuente-Nunez idr., 2018).

O depresiji in anksioznosti poroča kar 70 % – 90 % posameznikov s črevesnim vnetjem, kar nakazuje na povezavo med črevesno mikrobioto in tema motnjama (Mikocka-Walus, Knowles, Keefer in Graff, 2016, po De la Fuente-Nunez idr., 2018). Po drugi strani približno 60 % bolnikov z depresijo in anksioznostjo poroča o motnji črevesnega

delovanja, kot je npr. sindrom razdražljivega črevesja (IBS) (Liu in Zhu, 2018). Prav tako depresijo in anksioznost pogosto spremljajo spremembe v motiliteti debelega črevesja. To posledično spremeni sestavo in stabilnost črevesne mikrobiote ter fiziologijo in morfologijo debelega črevesja (Park idr., 2013, po Lach, Schellekens, Dinan in Cryan, 2018). Pri zdravih posameznikih je normalna dominantna mikrobiota relativno stabilna in je v simbiotskem odnosu z gostiteljem. Pri depresiji in anksioznosti pa pride do disbioze (Clapp, Aurora, Herrera, Bhatia, Wilen in Wakefield, 2017). Disbioza imenujemo kakršnokoli spremembo v sestavi komenzalne mikrobiote glede na mikrobioto, ki jo najdemo v zdravih posameznikih (Petersen in Round, 2014). Disbioza je skupaj s črevesnim vnetjem povezana z obema stresno povezanima motnjama (Clapp idr., 2017). S stresom povezane motnje lahko spremenijo tudi črevesno pregrado in povzročijo sindrom prepustnega črevesja (ang. leaky gut). Posledično mikrobiota sproži provnetni odziv preko translokacije določenih bakterijskih produktov iz črevesja (Kelly idr., 2015, po Lach idr., 2018).

Kljub temu da natančna etiologija teh motenj še ni znana, obstajajo številne razlage njihovih nevrobioloških mehanizmov, ki vključujejo kemična neravnovesja, bolezni, vnetje in stres (Rieder idr., 2017). Zmanjšanje glavnih neurotransmiterjev (serotonin, noradrenalin in dopamin), spremembe v nevroendokrinih poteh in hormonih (kortizol), povečanje inflamatornih citokinov in levkocitov v obtoku kot odziv na bolezen in inflamacijo, so bili opaženi tako pri anksioznosti kot depresiji. Eden izmed načinov konceptualizacije dinamske in medsebojne povezanosti teh fizioloških sprememb je preko stresa (Rieder idr., 2017). Glede na dolgo veljavno teorijo neravnotežja HPA osi je hormonsko neravnotežje tesno povezano z duševnimi motnjami (Huo idr., 2017). Prav tako dokazi kažejo, da obstaja neposredna povezava med mikrobioto in reaktivnostjo HPA osi. V nadaljevanju je podrobneje opisana vloga stresa, njegovih nevrobioloških mehanizmov in njegove povezave s stresom povezanimi motnjami in mikrobioto.

#### **4.1.1 Stres in stresni odziv**

Besedo stres uporabljamo za izkušnje, ki so za organizem čustveno in fiziološko zahtevne (McEwen, 2007). Dobri stres (evstres) se navezuje na izkušnje, ki trajajo omejeno količino časa in jih oseba lahko obvladuje ter posledično pustijo občutek vznesenosti in uresničitve. Slabi stres (distres) po drugi strani opisuje izkušnje, pri katerih manjka občutek nadzora in obvladovanja, običajno trajajo dalj časa ali se ponavljajo, so neprijetne, čustveno utrujajoče, fizično naporne ali nevarne (McEwen, 2007).

Optimalno delovanje organizma je odvisno od vzdrževanja stabilnega notranjega okolja preko homeostaze, za katero je ključen proces alostaze – dinamično vzdrževanje stabilnosti

tekem sprememb (McEwen, 1998, po Murison, 2016). Stres predstavlja akutno grožnjo tej homeostazi organizma. Ta grožnja je lahko resnična (fizična) ali zaznana (psihološka), predstavljajo pa jo lahko dogodki iz zunanjega sveta ali iz naše notranjosti (Chrousos in Gold, 1992, po Mayer, 2000).

Stres izzove prilagoditvene odzive, ki pomagajo ohranjati stabilnost notranjega okolja in zagotavljajo preživetje organizma (Sawchenko in Li, 2000, po Mayer, 2000). Tem organiziranim procesom pravimo stresni odziv in vključujejo različne mehanizme, ki telesu omogočijo, da naredi fiziološke in metabolične prilagoditve, nujno potrebne za spopadanje s homeostatskim izzivom (Gold in Chrousos, 2002, po Ray, Gulati in Rai, 2017). Stresni odziv prerazporedi vire energije in sproži biološke in vedenjske procese, ki stremijo k zmanjšanju odstopanj od optimalnega stanja (Murison, 2016). Stresni odziv je pretežno sestavljen iz HPA osi in simpatičnega živčnega sistema (Murison, 2016).

Organizem potrebuje odziv stresnih hormonov, da preživi v ogrožujočih situacijah, neustrezno ali preveliko adrenokortikalno in avtonomno delovanje pa je škodljivo za zdravje in preživetje (McEwen, 2007). Za razliko od drugih vrst smo ljudje nagnjeni k daljšim obdobjem povečane aktivnosti sistemov, ki nam pomagajo preživeti bolj akutne izzive (McEwen, 2007). Psihološke in fiziološke spremembe, ki jih povzročijo stresni življenjski dogodki, imenujemo psihološki stresni odziv. Slednji je prilagoditev evolucijskega odziva boj ali beg, ki lahko povzroči hiperaktivnost HPA osi, kar je najbolj značilna nevrobiološka sprememba pri depresivnih bolnikih (Pariante in Lightman, 2008, po Yang idr., 2015). Predvsem v zgodnjem delu življenja je stres eden izmed glavnih napovedovalcev hude depresivne motnje. Zgodnja izpostavljenost stresu in huda depresivna motnja sta namreč povezani z deregularizacijo HPA osi in stresnega/kortizolnega odzivnega sistema (Pagliaccion idr., 2014, po Bermudez-Humaran idr., 2019).

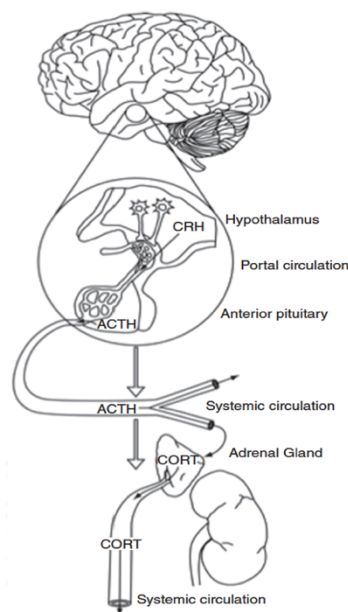
#### 4.1.1.1 Simpatični živčni sistem

Simpatični živčni sistem (SNS) vpliva na kardiovaskularni sistem, gastrointestinalni trakt, dihanje, renalni in endokrini sistem ter druge sisteme, medtem ko parasimpatični sistem zavira njegovo delovanje (Murison, 2016). Odziv SNS medira locus coeruleus (LC) oziroma noradrenergični sistem, ki ga sestavljajo noradrenergične celice v medulli in ponsu (Murison, 2016). Centralni nukleus projecira v možgansko deblo, poveča sproščanje noradrenalina (NA) iz končičev simpatičnih nevronov, simpatično aktivacijo in aktivacijo adrenalne medulle. Posledica tega so povečane ravni adrenalina in noradrenalina, vzburjenje, povečana pozornost in procesiranje zunanjih dražljajev (Murison, 2016). Simpatoadrenalni-medularni sistem sprošča kateholamine (predvsem adrenalin) v krvni

obtok, medtem ko SNS s holinergičnimi predganglijskimi tkivi sprošča NA iz postganglijskih aksonov (McCarty, 2016). Krvni tlak in srčni utrip sta povečana, energijski viri pa so preusmerjeni v mišične funkcije in ne v vegetativne funkcije (Murison, 2016). Istočasno amigdala aktivira hipotalamus, ki začne sproščati kortikotropin sproščujoči hormon (CRH), s čimer se aktivira HPA os (Murison, 2016).

#### 4.1.1.2 HPA os

Aktivacija hipotalamične-hipofizno-adrenokortikalne osi (HPA os) predstavlja primarni hormonski odziv na homeostatski iziv (Herman idr., 2016). Preko sprostitve glukokortikoidov HPA os mobilizira skladišča energije in s tem organizmu zagotovi sredstva za spopadanje z zunanjimi vedenjskimi dražljaji (reaktiven odziv) ali pa ga pripravi na pričakovan iziv. Nadzorovanje stresnega odziva je ključnega pomena, saj je neprimerna ali podaljšana aktivacija HPA osi energetsko potratna in je povezana s številnimi fiziološkimi in psihološkimi motnjami (Herman idr., 2016). Odziv HPA osi na stres je prikazan na spodnji sliki in predstavlja interakcijo med tremi različnimi organi, ki imajo lastne intrinzične kontrolne točke, ki regulirajo potek do končnega produkta – sproščanja glukokortikoidov (Herman idr., 2016).



*Slika 3.* Proces v kaskadi HPA osi. Stresor povzroči sproščanje CRH v prednjo hipofizo preko portalnega plexusa. To povzroči sproščanje ACTH v sistemski obtok, kjer promovira sintezo in sproščanje glukokortikoidov (Herman idr., 2016).

Prvi korak v kaskadi stresnega odziva HPA osi je CRH (kortikotropin sproščujoči hormon). Primarno gonilo stresnega odziva so CRH nevroni, ki so locirani v dorzomedialnem parvocelularnem delu paraventricularnega nukleusa (PVN) (Murison,

2016). Ti nevroni projecirajo v mediano eminenco, kjer so CRH in drugi peptidi sproščeni v hipofizni portalni pleksus. Peptidi nato potujejo do prednje hipofize in povzročijo sproščanje ACTH (adrenokortikotropni hormon) (McCarty, 2016). CRH receptorje najdemo tudi v perifernih tkivih – adrenalna medulla, srce, prostata, črevesje, jetra, ledvica in testisi (Murison, 2016). Iz živčnih končičev CRH nevronov v mediani eminenci se poleg ACTH istočasno sprošča tudi vazopresin (AVP), ki deluje skupaj s CRH in poveča odziv med stresom (McCarty, 2016). ACTH je nato prenešen v vezikle in preko regulirane eksocitoze sproščen v sistemski obtok (Herman idr., 2016).

Ko ACTH doseže adrenalni korteks, deluje na melanokortin 2 receptorje (MC2R) v zoni fascikulati (Hadley in Haskell-Luevano, 1999, po Herman idr., 2016), kar povzroči naglo povečanje biosinteze holesterola (Simpson in Waterman, 1988, po Herman idr., 2016). Holesterol je prekursor za večino steroidov, med drugim tudi glukokortikoidov. Po njihovi sintezi so glukokortikoidi sproščeni v obtok in potujejo na različne konce periferije in nazaj v osrednji živčni sistem (Herman idr., 2016). Glavna glukokortikoida sta kortizol in kortikosteron (Murison, 2016).

HPA in SNS veji stresnega odziva medsebojno sodelujeta. NA in CRH stimulirata drug drugega, prav tako se oba sistema samoregulirata preko avtoregulatornih negativnih povratnih zank. Tako HPA kot SNS regulira isti osrednji neurotransmitterski sistem in oba stimulirata serotonin in acetilholin (Murison, 2016).

#### **4.1.2 Stres, s stresom povezane motnje in mikrobiota**

Yerkes-Dodsonov zakon narekuje, da ima lahko stres pozitivni učinek do neke prelomne točke, po njej pa so njegovi učinki škodljivi (Bregman in Mcallister, 1983, po Dinan idr., 2015) in lahko pripeljejo do motenj. Položaj te prelomne točke je odvisen od številnih dejavnikov, med katerimi je tudi črevesna mikrobiota. Številni dokazi nakazujejo, da črevesna mikrobiota vpliva na s stresom povezana vedenja, vključno z anksioznostjo in depresijo (Foster, Rinaman in Cryan, 2017).

Naše razumevanje, kako črevesna mikrobiota vpliva na s stresom povezane motnje, so nam pomagali izboljšati živalski modeli (Foster idr., 2017). Do pomembnega odkritja so leta 2004 prišli Sudo idr., ki so pokazali, da imajo GF (ang. germ free) miši (miši brez sekundarne mikrobiote) povečan odziv HPA osi na stres. Ta odziv so lahko izničili preko kolonizacije z določeno vrsto bakterije iz rodu *Bifidobacteria* (Foster idr., 2017), vendar samo, če je rekolonizacija potekala v zgodnjem obdobju, kar nakazuje na kritično časovno obdobje za normalen, od mikrobioma odvisen razvoj HPA osi (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Študije na GF miših so poleg hiperaktivne HPA osi pokazale tudi višjo raven

ACTH in kortikosterona v odzivu na nove blažje stresorje (Clarke idr., 2013, po Rea, Dinan in Cryan, 2016). To se je izničilo po kolonizaciji s komenzalnimi bakterijami prenesenih iz kontrolnih miši. Poleg tega je za GF živali značilen anksiolitičen fenotip v novih in averzivnih blagih stresnih okoljih (De Palma idr., 2015, po Rea idr., 2016). Ponovna kolonizacija GF miši s komenzalnimi bakterijami zgodaj v življenju je izničila nekatere izmed opaženih vedenjskih in nevrokemičnih učinkov, vendar samo pri moških (Clarke idr., 2013, po Rea idr., 2016). GF miši kažejo manj vedenjskih primanjkljajev, povezanih z depresijo in anksioznostjo, kot miši, ki imajo sekundarno mikrobioto (Diaz idr., 2011, po De la Fuente-Nunez idr., 2018). Mikroorganizmi lahko vplivajo na razvoj depresije preko moduliranja vnetja, HPA osi ali preko signalnih živčnih prenašalcev (Foster in McVey Neufeld, 2013).

Pogosto se uporablja tudi živalski model ločitve od matere, ki predstavlja zgodnji življenjski stres in v odraslosti povzroči depresiji in anksioznosti podobne fenotipe, spremembe v sintezi in metabolizmu monoaminov, imunskem delovanju in aktivaciji HPA osi (O'Mahony idr., 2011, po Foster idr., 2017). Pri glodalcih zgodnja ločitev od matere povzroči motnje v mladičevi mikrobioti in hiperobčutljivost njegovega debelega črevesja (O'Mahony idr., 2011, po Foster idr., 2017).

Večina kliničnih študij nakazuje na zmanjšano mikrobsko diverzitetu pri depresivnih bolnikih (Huang idr., 2019). Zheng idr. (2016, po De la Fuente-Nunez idr., 2018) so z uporabo kliničnih vzorcev pokazali, da imajo bolniki s hudo depresivno motnjo spremenjeno količino *Firmicutes*, *Bacteroidetes* in *Actinobacteria* v primerjavi z zdravimi posamezniki. Transplantacija fekalne mikrobiote bolnikov z depresijo pri GF miših je povzročila depresiji podobna vedenja za razliko od kolonizacije z mikrobioto zdravih posameznikov, kar nakazuje na vzročno vlogo disbioze v razvoju depresije. Kelly idr. (2016, po Liu in Zhu, 2018) so raziskovali povezavo med depresijo in sestavo, količino in vrstami črevesne mikrobiote, pri čemer so lahko razlikovali med depresivnimi bolniki in zdravimi posamezniki na podlagi bakterijskih vrst mikrobiote. Tudi nekatere druge študije osvetljujejo potencial uporabe črevesnih mikrobskih markerjev za razlikovanje med bolniki z motnjami razpoloženja in zdravimi posamezniki (Huang idr., 2019). Vendar so imele te študije nejasen vzročno-posledični odnos med motnjami razpoloženja in črevesno mikrobioto (Huang idr., 2019).

## 5 TERAPEVTSKI POTENCIAL

Kljub zdravljenju s številnimi antidepresivi z različnimi mehanizmi delovanja približno 20 % bolnikov ne kaže zmanjšanja anksioznih ali depresivnih simptomov (Holtzheimer in Mayberg, 2011, po Clapp idr., 2017). Kot je opisano v prejšnjem poglavju, obstaja vse več dokazov, ki podpirajo dvosmerni odnos med komezalnimi organizmi v črevesju ter programiranju in odzivnosti stresnega sistema (Cryan in Dinan, 2012, po Rieder idr., 2017). Črevesna mikrobiota tako lahko igra pomembno vlogo pri zdravljenju in preprečevanju anksioznosti in depresije preko s stresom povezanih nevroendokrinih, avtonomnoživčnih in imunskih poti (Rieder idr., 2017). Mikrobiom ni privlačna terapevtska tarča samo za zdravljenje duševnih motenj, ampak bi bil lahko uporabljen tudi pri odzivanju na zdravljenje in odpravljanju stranskih učinkov zdravil, do katerih pogosto pride pri duševnih bolnikih (Mallan-Muller idr., 2018). V nadaljevanju sta opisani dve terapevtski možnosti za zdravljenje depresije in anksioznosti, ki temeljita na črevesni mikrobioti.

### 5.1 Psihobiotiki

Koncept psihobiotikov kot bakterij, ki imajo pozitivne učinke na duševno zdravje, so prvič uporabili Dinan idr. (2013, po Foster idr., 2017), od takrat pa so izraz razširili, da vključuje tudi druge pristope, ki vplivajo na mikrobioto in imajo pozitivne učinke na duševno zdravje, tudi pri zdravih posameznikih (Sarkar idr., 2016). Psihobiotiki so tako definirani kot zunanje intervencije, ki povzročijo spremembe v duševnem zdravju preko modulacije črevesnega mikrobioma. To lahko vključuje probiotike in prebiotike, prehrano in telovadbo, ki vpliva na enterične bakterijske skupnosti (Sarkar idr., 2016, po Lach idr., 2018).

Najpomembnejša oblika spreminjanja mikrobiote je prehrana (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Že kratke spremembe v prehrani, ki trajajo samo 24 ur, lahko drastično spremenijo sestavo črevesne mikrobiote (David idr., 2014, po Lach idr., 2018) in spremenijo raven bakterij in bakterijskih metabolitov, kot so kratkoverižne maščobne kisline, ki blagodejno vplivajo na zdravje (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Pri tem je pomembna kvaliteta prehrane – tipična zahodna prehrana drastično zmanjša količino *Bifidobacteria* in bakterij, ki producirajo butirat (Russell idr., 2011, po Lach idr., 2018), medtem ko mediteranska prehrana, ki velja za bolj zdravo, poveča količino SCFA (De Filippis idr., 2016, po Lach idr., 2018). Mediteranska prehrana in zmanjšan vnos procesiranega mesa in transmaščob nudi zaščito pred depresijo (Lassale idr., 2018, po Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019).

Dejavniki modernega življenjskega sloga (prehrana, stres, fizična aktivnost), antibakterijski produkti, okoljski dejavniki (onesnažila v hrani) in antibiotiki v prehrani in kot zdravilo zmanjšajo število koristnih mikrobov, ki pripomorejo k našemu fizičnemu, duševnemu in čustvenemu zdravju. Pomanjkanje teh mikrobov lahko vodi v zdravstvene posledice (Misra in Mohanty, 2019). Povezave med številnimi nevrološkimi motnjami in sestavo črevesne mikrobiote so vodile do povečanega zanimanja za raziskovanje izboljšanja črevesne mikrobiote preko probiotikov (Kim, Yun, Oh in Choi, 2018). Raziskave na ljudeh in živalih so pokazale, da lahko vnos koristnih mikrobov zmanjša depresijo, anksioznost in izboljša kognicijo (Misra in Mohanty, 2019). V tem kontekstu so psihobiotike najprej definirali le kot žive organizme, ki ob zadostnem vnosu povzročijo pozitivne zdravstvene učinke pri bolnikih z duševnimi motnjami. Psihobiotiki so predstavljali novo vrsto probiotikov, ki imajo širšo uporabo v psihiatriji (Dinan idr., 2013, po Misra in Mohanty, 2019). Največ probiotikov pride iz vrst *Lactobacillus* in *Bifidobacterium* (Kim in Shin, 2018). Večina kliničnih študij probiotikov je zaenkrat omejenih na zdrave populacije in ne na bolnike s specifičnimi diagnozami (anksioznost, depresija, stres, vedenjske težave) (Kim in Shin, 2018). Vendar število dokazov o pozitivnem učinku probiotikov pri zmanjševanju depresiji in anksioznosti podobnih simptomov narašča. V dvojno slepem kliničnem poskusu z naključnim vzorcem so ugotovili, da so zdravi udeleženci, ki so 30 dni prejeli mešanico probiotikov, ki so vsebovali *L.helveticus* in *B.longum*, kazali veliko manj psihološkega distresa kot kontrolna skupina, ki je prejela placebo (Messaoudi idr., 2011, po Zhou in Foster, 2015). Podobno je pokazala tudi druga podobna študija, kjer se je počutje zdravih prostovoljcev izboljšalo po treh tednih vnosa probiotične mlečne pijače, ki je vsebovala *Lactobacillus casei* Shirota (Benton, Williams in Brown, 2007, po Zhou in Foster, 2015). Te študije so pokazale, da lahko psihobiotiki spremenijo mentalne procese in zmanjšajo stresne odzive. Odpornost na okoljski stres je namreč močno odvisna od mikrobske sestave. Ta učinek je najbrž odvisen od sprememb HPA osi, nanjo pa lahko pozitivno vplivajo določene probiotične bakterijske vrste (Dinan idr., 2015).

Tudi nekateri prebiotiki pozitivno vplivajo na duševno zdravje, zato so bili vključeni v definicijo psihobiotikov (Sarkar idr., 2016, po Bermudez-Humaran idr., 2019). Prebiotiki so spojine, ki ob fermentaciji v črevesju, povzročijo določene spremembe v sestavi ali aktivnosti bakterij (Gibson idr., 2010, po Sarkar idr., 2016). Glavni prebiotiki so galakto-oligosaharidi, frukto-oligosaharidi, insulini in oligofruktoze. Ti prebiotiki namreč višajo raven rodu *Bifidobacterium* v prebavnem traktu in pozitivno vplivajo na os mikrobiota-črevesje-možgani (Depeint idr., 2008, po Kim in Shin, 2018). Naravni viri prebiotikov vključujejo sadje in zelenjavo, npr. šparglje, por, banane, radič, ter žitarice, npr. oves in pšenica. To je hrana, ki jo vse bolj primanjkuje v zahodni prehrani (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Klinične študije učinkov prebiotikov na vedenje so omejene. V eni izmed



njih so zdravi prostovoljci tri tedne prejeli Bimuno®-galaktooligosaharide (B-GOS), frukto-oligosaharide (FOS) ali placebo. Raziskovalci so merili odziv kortizola v budnem stanju, pozornost in čustvene procese. Udeleženci, ki so prejeli B-GOS, so imeli pomembno nižje ravni kortizola in večjo pozornost (Schmidt idr., 2015, po Kim in Shin, 2018).

Ena izmed potencialnih psihobiotičnih tarč so tudi črevesni peptidi. Zaenkrat se na tem področju spopadajo z omejeno stabilnostjo peptidov, kratkim časom delovanja in njihovo sposobnostjo prečkanja krvno-možganske pregrade (Yin, Yuvienco in Montclare, 2017, po Lach idr., 2018). To omejuje vnesenim peptidom, da bi dosegli določeno tarčno mesto in izzvali iste učinke kot endogeni peptidi (Pillai, Dhanikula in Panchangula, 2001, po Lach idr., 2018). Napredki na področju farmakomikrobiomike, ki se osredotoča na interpretiranje intraindividualnih človeških mikrobiomov, razdeljenih glede na življenjske sloge, osvetljujejo, kako lahko boljše razumevanje človeškega mikrobioma vodi v razvoj novih psihobiotičnih zdravil (Maldonado-Gomez idr., 2016, po Lach idr., 2018). Pomembna je tudi individualizacija psihobiotikov, ki bi se osredotočila na s peptidi povezanimi imunskimi odzivi, izboljšanje vagalnega signaliziranja ali moduliranja izražanja neuropeptidov v možganskih področjih, povezanih z duševnim zdravjem (Lach idr., 2018).

## 5.2 Fekalna mikrobiotska transplantacija

Koncept uporabe fekalne mikrobiotske transplantacije (FMT) kot terapevtski pristop poznamo že 1700 let, zahodna moderna medicina pa mu je začela namenjati pozornost šele v zadnjih letih (Vandenplas, Pierars in De Greef, 2015, po Evrensel in Ceylan, 2016). Postopek vključuje vnos fekalne mikrobiote iz izbranega darovalca v GI trakt prejemnika, da bi bil njegov mikrobiom bolj podoben darovalčevemu (Borody in Khoruts, 2011, po Bastiaanssen, Cowan, Claesson, Dinan in Cryan, 2019). Ko je postopek uporabljen kot terapevtska intervencija, mora biti darovalec testiran, saj se lahko fenotipi, kot so prekomerna debelost in depresija (vsaj pri glodalcih), prenesejo preko FMT (Kelly idr., 2016, po Bastiaanssen idr., 2019). Trenutno obstaja 8 parametrov pri določanju ustreznosti darovalca: starost, fiziologija, patologija, psihologija, verodostojnost, čas, življenjsko okolje in prejemniki (Zhang, Zhang, Zhu in Borody, 2019).

FMT se uspešno uporablja pri okužbi s *Clostridium difficile*, kroničnih vnetnih črevesnih boleznih (Chronova bolezen in ulcerozni kolitis) (Aroniadis in Bdrandt, 2013, po Evrensel in Ceylan, 2016). Za ta stanja je FMT zanesljiva metoda zdravljenja brez hudih stranskih učinkov – bolniki lahko poročajo o abdominalnih bolečinah, napenjanju, diareji in zaprtju na dan posega (Smits idr., 2013, po Evrensel idr., 2019), v majhnem odstotku pa tudi o

zapletih (krvavitve, peritonitis in enteritis) (Aas, Gessert in Bakken, 2003, po Evrensel idr., 2019). Tveganja FMT pri duševnih motnjah še niso znana, zato so potrebne še dodatne raziskave (Evrensel idr., 2019).

FMT se je za učinkovito izkazala tudi v študiji primera bolnika s Parkinsonovo boleznijo (Gray idr., po Dinan in Cryan, 2017), pri bolnikih z multiplo sklerozo in avtizmom (Xu idr., 2015, po Dinan in Cryan, 2017). Glede na predklinične podatke živalskih modelov s stresom povezanih motenj domnevajo, da bi bila FMT lahko učinkovita tudi pri depresiji, ki se ne odziva na druga zdravljenja (Dinan in Cryan, 2017). Do sedaj je bila narejena le ena intervencijska študija fekalne mikrobiotske transplantacije v nevropsihiatrični populaciji – transplantacija 18 otrok, diagnosticiranih z eno od motenj avtističnega spektra (Kang idr., 2017, po Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). V njej so poročali o splošnem povečanju bakterijske diverzitete in pomembnem izboljšanju v gastrointestinalnih in avtističnih vedenjskih simptomih, ki so bili prisotni tudi 8 tednov po končanem zdravljenju. Uporaba fekalne mikrobiotske transplantacije za duševne motnje je torej še v povojih, vendar predstavlja nove terapevtske možnosti (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019).

## 6 ZAKLJUČEK

Bakterije so naše neizogibne spremljevalke že več milijard let. V tem času smo razvili mutualističen odnos, v katerem jim mi nudimo življenjski prostor in hranila, one pa nam pomagajo pri varovanju pred škodljivimi patogeni, metabolizmu hranil in sintezi vitaminov. V zadnjih letih je v osredju raziskovanja v medicini predvsem povezava med možgani, črevesjem in mikrobiomom (Clapp idr., 2017). Ta komunikacija poteka preko več različnih poti – živčne poti, kjer igra glavno vlogo živec vagus, imunske poti, neuroendokrine poti, živčnih prenašalcev in mikrobnih metabolitov.

Znotraj raziskovanja osi mikrobiota-črevesje-možgani se ogromno raziskav osredotoča na duševne motnje. Tako predklinične kot tudi klinične študije nakazujejo na tesno povezavo med črevesno mikrobioto in duševnim zdravjem. Med najpogostejše duševne motnje spadata depresija in anksioznost, katerih etiologijo in nevrobiološke mehanizme lahko obravnavamo preko stresa in posledično govorimo o s stresom povezanimi motnjami. V osredju teh motenj je HPA os, črevesni mikrobi pa vplivajo nanjo, na stresni odziv in posledično na možgansko delovanje in vedenje (Rieder idr., 2017).

Glede na to, da stres, depresija in anksioznost postajajo vse večje breme naše družbe, je pomembno, da te ugotovitve prevedemo v nove ukrepe in terapije. Psihobiotiki in fekalna mikrobiotska transplantacija predstavljajo obetavne načine zdravljenja duševnih motenj, vendar obstaja odprtih še mnogo vprašanj. Psihobiotiki so še relativno nov koncept, zato je potrebno še veliko dela za identificiranje natančnih mehanizmov interakcij osi mikrobiota-črevesje-možgani in velikosti njihovega vpliva na fiziološke in psihološke procese (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Potrebne so tudi človeške študije za boljšo karakterizacijo normalne in disbiotične mikrobiote ter odkrivanje vzorcev, ki so povezani z določenimi bolezenskimi procesi (Butler, Sandhu, Cryan in Dinan, 2019). Pri FMT bo potrebno odgovoriti na dileme informiranih soglasij in ranljivosti bolnikov, določitev primernih darovalcev, varnosti in tveganja, komercializacije in potencialnega izkoriščanja ranljivih bolnikov ter implikacije za javno zdravje (Zhang idr., 2019).

Kljub temu da nekatera vprašanja zaenkrat ostajajo še neodgovorjena, to ne pomeni, da ne moremo že zdaj uporabiti znanja, ki ga imamo, in prevzeti odgovornosti za naše zdravje. Eden izmed najpomembnejših modulatorjev naše črevesne mikrobiote je namreč popolnoma odvisen od nas samih – naš življenjski slog. V osredju tega je naša prehrana – obstaja veliko naravnih virov probiotikov in prebiotikov, s katerimi lahko izboljšamo svoje (duševno) zdravje. Ali povedano z besedami Hipokrata: »Naj bo hrana vaše zdravilo.«

## 7 LITERATURA IN VIRI

Bäckhed, F., Ley, R.E., Sonnenburg, J.L., Peterson, D.A. in Gordon, J.I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 307 (5717), 1915–1920.

Barbosa Silva, M.J., Heitor Carneiro, M.B., dos Anjos Pultz, B., Pereira Silva, D., Eustáquio de Moura Lopes, M. in Martins dos Santos, L. (2015). The Multifaceted Role of Commensal Microbiota in Homeostasis and Gastrointestinal Diseases. *Journal of Immunology Research*, 2015, 1–14.

Bastiaanssen, T.F.S., Cowan, C.S.M., Claesson, M.J., Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2019). Making sense of the microbiome in psychiatry. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 22 (1), 37–52.

Bermudez-Humaran, L.G., Salinas, E., Ortiz, G.G., Ramirez-Jirano, L.J., Morales, J.A. in Bitzer-Quintero, O.K. (2019). From probiotics to psychobiotics: Live beneficial bacteria which act on the brain-gut axis. *Nutrients*, 11 (890), 1–22.

Bhat, M.I. in Kapila, R. (2017). Dietary metabolites derived from gut microbiota: critical modulators of epigenetic changes in mammals. *Nutrition Reviews*, 75 (5), 374–389.

Borre, Y.E., Moloney, R.D., Clarke, G., Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2014). The impact of Microbiota on Brain and Behavior: Mechanisms & Therapeutic Potential. V M. Lyte in J.F. Cryan (ur.), *Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease, Advances in Experimental Medicine and Biology* (str. 373–403). New York: Springer.

Butler, M.I., Cryan, J.F. in Dinan, T.G. (2019). Man and the microbiome: A new theory of everything? *Annual Reviews of Clinical Psychology*, 15, 1–28.

Butler, M.I., Sandhu, K., Cryan, J.F. in Dinan, T.G. (2019). From isoniazid to psychobiotics: the gut microbiome as a new antidepressant target. *British Journal of Hospital Medicine*, 80 (3), 139–145.

Canny, G.O. in McCormick, B.A. (2008). Bacteria in the intestine, helpful residents or enemies from within? *Infection and Immunity*, 76, 3360–3373.

Chai, J.N., Zhou, Y.W. in Hsieh, C.S. (2014). T cells and intestinal commensal bacteria-ignorance, rejection, and acceptance. *FEBS Letters*, 588 (22), 4167–4175.

Charbonneau, M.R., Blanton, L.V., DiGiulio, D.B., Relman, D.A., Lebrilla, C.B., Mills, D.A. in Gordon, J.I. (2016). A microbial perspective of human developmental biology. *Nature*, 535, 48–55.

Clapp, M., Aurora, N., Herrera, L., Bhatia, M., Wilen, E. in Wakefield, S. (2017). Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis. *Clinics and Practice*, 7 (987), 131–136.

Cox, L.M. in Weiner, H.L. (2018). Microbiota signaling pathways that influence neurologic disease. *Neurotherapeutics*, 15 (1), 135–145.

Dai, J., Liu, B. in Li, Z. (2009). Regulatory T cells and Toll-like receptors: What is the missing link? *International Immunopharmacology*, 9 (5), 528–533.

Davenport, E.R., Sanders, J.G., Song, S.J., Amato, K.R., Clark, A.G. in Knight, R. (2017). The human microbiome in evolution. *BMC Biology*, 15 (127), 1–12.

De la Fuente-Nunez, C., Torres Meneguetti, B., Franco, O.L. in Lu, T.K. (2018). Neuromicrobiology: how microbes influence the brain. *ACS Chemical Neuroscience*, 9 (2), 141–150.

Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2016). Mood by microbe: towards clinical translation. *Genome Medicine*, 8 (36), 1–3.

Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2017). Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *The Journal of Physiology*, 595 (2), 489–503.

Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2019). Gut microbes and depression: Still waiting for Godot. *Brain, Behavior, and Immunity*, 79, 1–2.

Dinan, T.G., Stilling, R.M., Stanton, C. in Cryan, J.F. (2015). Collective unconscious: How gut microbes shape human behavior. *Journal of Psychiatric Research*, 63, 1–9.

Dominguez-Bello, M.G., Godoy-Vitorino, F., Knight, R. in Blase, M.J. (2019). Role of the microbiome in human development. *Gut*, 0, 1–7.

Evrensel, A. in Ceylan, M.E. (2016). Fecal microbiota transplantation and its usage in neuropsychiatric disorders. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 14 (3), 231–237.

Evrensel, A., Ünsalver, B.Ö. in Ceylan, M.E. (2019). Therapeutic potential of the microbiome in the treatment of neuropsychiatric disorders. *Medical Sciences*, 7 (2), 1–14.

Forsythe, P., Bienenstock, J. in Kunze, W.A. (2014). Vagal pathways for microbiome-brain-gut axis communication. V M. Lyte in J.F. Cryan (ur.), *Microbial Endocrinology: The microbiota-gut-brain axis in health and disease* (str. 115–133). New York: Springer.

Foster, J.A. in McVey Neufeld, K.A. (2013). Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36 (5), 305–312.

Foster, J.A., Rinaman, L. In Cryan, J.F. (2017). Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiology of Stress*, 7, 124–136.

Fraile Ovejero, A. in Negri, M. (1993). *Fiziologija človeka*. Ljubljana: DELO – Tiskarna.

Fung, T.C., Olson, C.A. in Hsiao, E.Y. (2017). Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease. *Nature Neuroscience*, 20 (2), 145–155.

Gorbach, S.L. (1996). Microbiology of the Gastrointestinal Tract. V S. Baron (ur.), *Medical Microbiology* (Poglavje 95). Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston.

Gulas, E., Wyśiadecki, G., Strzelecki, D., Gawlik-Kotelnicka, O. in Polguy, M. (2018). Can microbiology affect psychiatry? A link between gut microbiota and psychiatric disorders. *Psychiatria Polska*, 52 (6), 1023–1039.

Herman, J.P., McKlveen, J.M., Ghosal, S., Kopp, B., Wulsin, A., Makinson, R., Scheimann, J. in Myers, B. (2016). Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response. *Comprehensive Physiology*, 6, 603–621.

Hightower, N.C., Sircus, W., Keeton, W.T. in Dworken, H.J. (2018). Human digestive system. Pridobljeno junija 2019 na: <https://www.britannica.com/science/human-digestive-system>

Huang, T.T., Lai, J.B., Du, Y.L., Xu, Y., Ruan, L.M. in Hu, S.H. (2019). Current understanding of gut microbiota in mood disorders: An update on human studies. *Frontiers in Genetics*, 10, 1–12.

Huo, R., Zeng, B., Zeng, L., Cheng, K., Li, B., Luo, Y., Wang, H., Zhou, C., Fang, L., Li, W., Niu, R., Wei, H. In Xie, P. (2017). Microbiota modulate anxiety-like behavior and endocrine abnormalities in hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7 (489), 1–9.

Jaladanki, R.N. in Wang, J.Y. (2017). Intestinal architecture and development. V D.N. Granger in J. Granger (ur.), *Regulation of gastrointestinal mucosal growth* (str. 3–9). Morgan & Claypool Life Sciences.

Kelly, J.R., Kennedy, P.J., Cryan, J.F., Dinan, T.G., Clarke, G. in Hyland, N.P. (2015). Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9, 1–20.

Kim, Y.K. in Shin, C. (2018). The microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric disorders: Pathophysiological mechanisms and novel treatments. *Current Neuropharmacology*, 16, 559–573.

Kim, N., Yun, M., Oh, Y.J. in Choi, H.J. (2018). Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. *Journal of Microbiology*, 56 (3), 172–182.

Krajmalnik-Brown, R., Ilhan, Z.E., Kang, D.W. in DiBaise, J.K. (2012). Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutrition in Clinical Practice*, 27 (2), 201–214.

Lach, G., Schellekens, H., Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2018). Anxiety, depression, and the microbiome: A role for gut peptides. *Neurotherapeutics*, 15 (1), 36–59.

Lathrop, S.K., Bloom, S.M., Rao, S.M., Nutsch, K., Lio, C.W., Santacruz, N., Peterson, D.A., Stappenbeck, T.S. in Hsieh, C.S. (2011). Peripheral education of the immune system by colonic commensal microbiota. *Nature*, 478, 250–255.

Lee, Y.K. in Mazmanian, S.K. (2010). Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? *Science*, 330, 1768–1773.

Li, Z., Quan, G., Jiang, X., Yang, Y., Ding, X., Zhang, D., Wang, X., Hardwidge, P.R., Ren, W. in Zhu, G. (2018). Effects of metabolites derived from gut microbiota and hosts on pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8 (314), 1–12.

Liang, S., Wu, X. in Jin, F. (2018). Gut-brain psychology: Rethinking psychology from the microbiota-gut-brain axis. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 12 (33), 1–24.

Liu, L. In Zhu, G. (2018). Gut-brain axis and mood disorder. *Frontiers in Psychiatry*, 9, 1–8.

Malan-Muller, S., Valles-Colomer, M., Raes, J., Lowry, C.A., Seedat, S. in Hemmings, S.M.J. (2018). The gut microbiome and mental health: Implications for anxiety- and trauma-related disorders. *OMICS*, 22 (2), 90–107.

Martin, C.R., Osadchiy, V., Kalani, A. in Mayer, E.A. (2018). The brain-gut-microbiome axis. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 6 (2), 133–148.

Mayer, E.A. (2000). The neurobiology of stress and gastrointestinal disease. *Gut*, 47, 861–869.

McCarty, R. (2016). Learning about stress: neural, endocrine and behavioral adaptations. *Stress*, 19 (5), 449–475.

McEwen, B.S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: Central role of the brain. *Physiological Reviews*, 87 (3), 873–904.

Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turrone, F., Mahony, J., Belzer, C., Delgado Palacio, S., Montes, S.A., Mancabelli, L., Lugli, G.A., Rodriguez, J.M., Bode, L., de Vos, W., Gueimonde, M., Margolles, A., van Sinderen, D. in Ventura, M. (2017). The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81 (4), 1–67.

Misra, S. In Mohanty, D. (2019). Psychobiotics: A new approach for treating mental illness? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59 (8), 1230–1236.

Murison, R. (2016). The neurobiology of stress. V M. al'Absi in M.A. Flaten (ur.), *Neuroscience of Pain, Stress, and Emotion: Psychological and Clinical Implications* (str. 29–49). Elsevier Inc.

Nikoopour, E. in Singh, B. (2014). Reciprocity in microbiome and immune system interactions and its implications in disease and health. *Inflammation & Allergy – Drug Targets*, 13, 94–104.



Petersen, C. in Round, J.L. (2014). Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cellular Microbiology*, 16 (7), 1024–1033.

Postler, T.S. in Ghosh, S. Understanding the holobiont: How microbial metabolites affect human health and shape the immune system. *Cell Metabolism*, 26, 110–130.

Rajakovich, L.J. in Balskus, E.P. (2019). Metabolic functions of the human gut microbiota: the role of metalloenzymes. *Natural Product Reports*, 36 (4), 593–625.

Ramakrishna, B.S. (2013). Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 28 (4), 9–17.

Ray, A., Gulati, K. in Rai, N. (2017). Stress, anxiety, and immunomodulation: A pharmacological analysis. *Vitamins and Hormones*, 103, 1–25.

Rea, K., Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2016). The microbiome: A key regulator of stress and neuroinflammation. *Neurobiology of Stress*, 4, 23–33.

Rieder, R., Wisniewski, P.J., Alderman, B.L. in Campbell, S.C. (2017). Microbes and mental health: A review. *Brain, Behavior, and Immunity*, 66, 9–17.

Rios, A.C., idr. (2017). Microbiota abnormalities and the therapeutic potential of probiotics in the treatment of mood disorders. *Reviews in the Neurosciences*, 28 (7), 739–749.

Rodriguez, J.M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R.P., Kober, O.I., Juge, N., Avershina, E., Rudi, K., Narbad, A., Jenmalm, M.C., Marchesi, J.R. in Collado, M.C. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26, 1–17.

Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele, I. in Tuohy, K. (2018). Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*, 57 (1), 1–24.

Sarkar, A., Lehto, S.M., Harty, S., Dinan, T.G., Cryan, J.F. in Burnet, P.W.J. (2016). Psychobiotics and the manipulation of bacteria-gut-brain signals. *Trends in Neurosciences*, 39 (11), 763–781.

Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C.M. in Finlay, B.B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*, 90, 860–895.

Sherwin, E., Sandhu, K.V., Dinan, T.G. in Cryan, J.F. (2016). May the force be with you: The light and dark sides of the microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatry. *CNS Drugs*, 30 (11), 1019–1041.

Tanaka, M. in Nakayama, J. (2017). Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergy International*, 66, 515–522.

Thursby, E. in Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474, 1823–1836.

Villanueva-Millán, M.J., Pérez-Matute, P. in Oteo, J.A. (2015). Gut microbiota: a key player in health and disease. A review focused on obesity. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 71 (3).

Voreades, N., Kozil, A. in Weir, T.L. (2014). Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 5 (494), 1–9.

World Health Organization. (2017). Depression and other common mental disorders: Global health estimates. Dostopano maja 2019 na:

<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254610/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf>

Yang, L., Zhao, Y., Wang, Y., Liu, L., Zhang, X., Li, B. in Cui, R. (2015). The effects of psychological stress on depression. *Current Neuropharmacology*, 13, 494–504.

Zhang, F., Zhang, T., Zhu, H. In Borody, T.J. (2019). Evolution of fecal microbiota transplantation in methodology and ethical issues. *Current Opinion in Pharmacology*, 49, 11–16.

Zhou, L. in Foster, J.A. (2015). Psychobiotics and the gut-brain axis: in the pursuit of happiness. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 715–723.

Zhu, X., Han, Y., Du, J., Liu, R. in Jin, K. (2017). Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. *Oncotarget*, 8 (3), 53829–53838.