

Utjecaj crijevne mikrobiote na učenje i pamćenje kod sisavaca

Kuljanić, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:195284>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Matea Kuljanić

**Utjecaj crijevne mikrobiote na učenje i
pamćenje kod sisavaca**

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Matea Kuljanić

**The effect of the gut microbiota on learning
and memory in mammals**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularne biologije na Zavodu za mikrobiologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Martine Šeruge Musić.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Utjecaj crijevne mikrobiote na učenje i pamćenje kod sisavaca

Matea Kuljanić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Os mikrobiom-crijevo-mozak dvosmjerni je komunikacijski sustav kojim crijevna mikrobiota djeluje na niz kognitivnih funkcija. Sve je više istraživanja koja pokazuju utjecaj crijevnog mikrobioma na učenje i pamćenje povezano s hipokampusom, moždane procese koji su pogođeni u mnogim neurodegenerativnim i mentalnim bolestima. Mikrobiom stoga predstavlja potencijalni terapijski i dijagnostički alat u nizu neuroloških bolesti i poremećaja. Ovaj završni rad predstavlja kratki pregled dosadašnjeg istraživanja o učinku crijevnog mikrobioma na učenje i pamćenje povezano s hipokampusom kod sisavaca. Taj je učinak opisan kroz četiri međusobno povezana puta, koji čine komponente osi mikrobiom-crijevo-mozak: živac vagus, os HPA, imunosni sustav i metaboliti. Nadalje, u radu su ukratko opisane različite vrste pamćenja kao i procesi koji su uključeni u nastanak pamćenja u hipokampusu.

Ključne riječi: mikrobiom; hipokampus; os mikrobiom-crijevo-mozak; živac vagus; imunosni sustav; os HPA

(35 stranica, 3 slika, 0 tablica, 92 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Martina Šeruga Musić

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

The effect of the gut microbiota on learning and memory in mammals

Matea Kuljanić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

The microbiome-gut-brain axis is a bidirectional communication system through which the gut microbiota affects a variety of cognitive functions. An accumulating number of studies have shown the effect of the gut microbiome on hippocampus-dependent learning and memory - brain processes that are disordered in a multitude of neurodegenerative diseases and mental disorders. The microbiome therefore represents an exciting potential therapeutic and diagnostic tool in a variety of neurological diseases and disorders. This thesis provides a short review of the current research on the gut microbiome's effect on hippocampus-dependent learning and memory in mammals. This influence is described through four interconnected pathways, components of the microbiome-gut-brain axis: the vagus nerve, the HPA axis, the immune system and metabolites. Furthermore, this thesis contains a short description of the different types of memory as well as the processes involved in the hippocampus-dependent memory formation.

Keywords: microbiome; hippocampus; microbiome-gut-brain axis; vagus nerve; immune system; HPA axis

(35 pages, 3 figures, 0 tables, 92 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Prof. Martina Šeruga Musić, Ph.D.

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
2. UČENJE I PAMĆENJE	2
2.1. HIPOKAMPUSNA FORMACIJA.....	3
2.2. NASTANAK DUGOROČNOG PAMĆENJA	5
2.3. SINAPTIČKA PLASTIČNOST	5
2.4. BDNF	6
2.5. ADULTNA HIPOKAMPUSNA NEUROGENEZA	6
3. MIKROBIOM I MIKROBIOTA	7
3.1. OS MIKROBIOM-CRIJEVO-MOZAK	8
3.2. UTJECAJ MOZGA NA CRIJEVA	8
3.3. UTJECAJ CRIJEVA NA MOZAK	9
3.4. ČETIRI PUTA DJELOVANJA MIKROBIOMA NA HIPOKAMPUS	11
4. N .VAGUS	12
4.1. UTJECAJ MIKROBIOMA NA VAGUS	12
4.2. UČINAK VAGUSA NA HIPOKAMPUS.....	13
4.3. UTJECAJ MIKROBIOMA NA HIPOKAMPUS POSREDSTVOM VAGUSA	14
5. OS HPA	14
5.1. UTJECAJ MIKROBIOMA NA OS HPA	15
5.2. UTJECAJ OSI HPA NA HIPOKAMPUS	16
5.3. UČINAK MIKROBIOMA NA HIPOKAMPUS PUTE M OSI HPA	16
6. IMUNOSNI SUSTAV.....	17
6.1. MIKROGLIJA.....	18
6.2. UČINAK DISBIOZE NA HIPOKAMPUSNU FUNKCIJU	19
7. METABOLITI.....	20
7.1. SCFA	20
7.1.1. UTJECAJ NA HISTONSKU ACETILACIJU.....	21

7.1.2. BDNF	22
7.2. NEUROTRANSMITERI	22
7.2.1. TRIPTOFAN I SEROTONIN	22
7.2.2. TIROZIN I KATEKOLAMINI.....	23
7.2.3. GLUTAMIN, GLUTAMAT I GABA	24
8. ZAKLJUČAK	25
9. LITERATURA:.....	26
10. ŽIVOTOPIS:	35

POPIS KRATICA:

- BBB (eng. *blood-brain barrier*) - krvno-moždana barijera
- BDNF (eng. *brain-derived neurotrophic factor*) - moždani neurotrofni čimbenik
- CA (lat. *cornu ammonis*)
- EEC (eng. *enteroendocrine cell*) - enteroendokrini stanica
- ENS (eng. *enteric nervous system*) - enterički živčani sustav
- GABA (eng. *γ-aminobutyric acid*) - γ-aminomaslačna kiselina
- GALT (eng. *gut-associated lymphoid tissue*) - limfno tkivo crijeva
- GBA (eng. *gut-brain axis*) - os crijevo-mozak
- GD (lat. *gyrus dentatus*)
- GF (eng. *germ-free*) - bez mikroba
- HAT (eng. *histone acetyltransferase*) - histonska acetiltransferaza
- HDAC (eng. *histone deacetylase*) - histonska deacetilaza
- IPAN (eng. *intrinsic primary afferent neuron*) - intrinzični primarni aferentni neuroni
- LPS (eng. *lipopolysaccharide*) - lipopolisaharid
- LTP (eng. *long-term potentiation*) - dugoročna potencijacija
- MAMP (eng. *microbe-associated molecular pattern*) - molekularni obrasci povezani s mikroorganizmima
- MGB (eng. *microbiome-gut-brain*) - (os) mikrobiom-crijevo-mozak
- NMDAR (eng. *N-methyl-D-aspartate receptor*) - N-metil-D-aspartat receptor
- NSC (eng. *neural stem cells*) - neuralne matične stanice
- PRR (eng. *pattern recognition receptors*) - receptori za prepoznavanje obrazaca
- SGZ (eng. *subgranular zone*) - subgranularna zona
- SPF (eng. *specific pathogen free*) - bez specifičnih patogena
- SŽS - središnji živčani sustav
- TLR (eng. *Toll-like receptors*) - receptori slični Tollu
- VNS (eng. *vagus nerve stimulation*) - stimulacija živca vagusa

1. UVOD

Učenje i pamćenje kognitivne su funkcije koje životinjama omogućavaju preživljavanje i prilagođavanje na okoliš koji se neprestano mijenja. S antropocentričnog stajališta, upravo su sjećanja ono što određuje identitet osobe, njezine misli, emocije i ponašanje. S promjenama u prehrani i stilu života koji karakteriziraju zapadne države, kao i s produženjem životnog vijeka ljudi, vidi se i porast u prevalenciji različitih vrsta neurodegenerativnih i mentalnih bolesti kojima je jedna od karakteristika upravo poremećaj u učenju i pamćenju. Stoga postaje sve veći imperativ otkriti uzorke takvih poremećaja, kao i mogućnosti prevencije i terapije.

Crijevni mikrobiom, taj 'zanemareni ljudski organ', tek posljednjih desetljeća dolazi u središte pozornosti kao područje s velikim potencijalom. Opsežna istraživanja mikrobioma sve više zamagljuju granicu između nas i našeg okoliša i naglašavaju pitanje kako uopće definirati jedan organizam. Mikrobiom je neizostavan dio tijela životinja, pa time i sisavaca, koji može ostvarivati veliki utjecaj na zdravlje i bolest jedinke. Gotovo ne postoji tjelesna funkcija koja nije na neki način pod utjecajem mikrobioma, a time ni učenje i pamćenje nisu isključeni.

S obzirom na složenost memorijskih sustava, i postojanje različitih vrsta pamćenja koje uključuju i različite moždane strukture, u ovom je završnom radu obrađen utjecaj crijevne mikrobiote samo na učenje i pamćenje povezano s hipokampusom, koje je ujedno i najbolje istraženo.

2. UČENJE I PAMĆENJE

Učenje i pamćenje su ključni i međusobno povezani kognitivni procesi. Učenje definiramo kao promjenu u ponašanju do koje dolazi kao posljedica stjecanja novih informacija o okolini ili svijetu, dok pamćenje predstavlja sposobnost pohrane i ponovnog prisjećanja tih informacija. Neizostavno je spomenuti, kada se priča o pamćenju, najbolje proučavan slučaj bilateralnog odstranjenja hipokampusa i njemu okolnih struktura, osobu poznatu pod inicijalima H. M. Kao posljedica moždanog oštećenja koje je zadobio u ranoj dobi, H. M. je patio od perzistirajućih epileptičnih napadaja koji su mu onemogućavali normalan život, te su mu iz toga razloga obostrano odstranjene strukture medijalnog temporalnog režnja, uključujući i hipokampusnu formaciju i amigdalu. Iako su mu se epileptični napadaji nakon operacije poboljšali, pokazalo se da pacijent boluje od anterogradne amnezije. Ono što je dalo uvid u funkciju odstranjenih struktura, te u različite tipove pamćenja, bile su karakteristike amnezije od koje je bolovao H. M. Naime, H. M. je i dalje imao funkcionalno radno pamćenje, te je bio sposoban sjetiti se događaja koji su se zbili prije operacije, međutim, nije mogao stvarati nova dugoročna pamćenja. Pritom se ta nemogućnost odnosila samo na određene tipove informacija. Taj i mnogi drugi slučajevi odstranjenja ili lezija određenih moždanih struktura bili su ključni za određivanje tipova pamćenja, kao i struktura za koje su oni vezani (Kandel i sur. 2021).

Tako je duga i bogata povijest znanstvenog istraživanja utemeljila sada već uvriježenu podjelu na dva sustava pamćenja (eng. *memory system*): deklarativno, koje se još naziva i eksplicitnim, te nedeklarativno, iliti implicitno. Ključna distinkcija između dva sustava je dostupnost pamćenja svjesnosti, te ovisnost o hipokampusu, tj. strukturama medijalnog temporalnog režnja (Squire, 2004). Eksplicitno je pamćenje pohranjeno znanje o ljudima, mjestima, događajima i činjenicama, kojem se može svjesno pristupiti, a vezano je uz strukture diencefalona i medijalnog temporalnog režnja. Dijeli se na epizodičko pamćenje, što je autobiografsko pamćenje koje omogućava prisjećanje događaja, i semantičko pamćenje, u kojem su pohranjene činjenice (Squire, 2004). S druge strane, nedeklarativno ili implicitno pamćenje, ono je koje nije dostupno svjesnoj razini, a očituje se anjčešće kroz izvođenje nekog zadatka. Karakterizira ga automatizam, nesvjesnost, i postepeno učenje. Implicitno je pamćenje širok pojam koji uključuje različite tipove pamćenja, koji se temelje i na različitim moždanim strukturama, poput striatuma, cerebeluma, amigdale i drugih. Tu spadaju učenje vještina i navika, priming, neasocijativno učenje (habituacija i senzitivacija) i asocijativno učenje (uvjetovanje) (Kandel i sur. 2021).

Druga je podjela pamćenja s obzirom na trajanje, pri čemu razlikujemo kratkoročno, koje traje minute do sati, i dugoročno pamćenje, koje traje danima, godinama, čak i cijeli život (Kandel i sur. 2021). I dok se kratkoročno pamćenje temelji na modifikacijama postojećih proteina, dugoročno pamćenje zahtijeva promjenu genske ekspresije, i proteinske sinteze (Bisaz i sur. 2014).

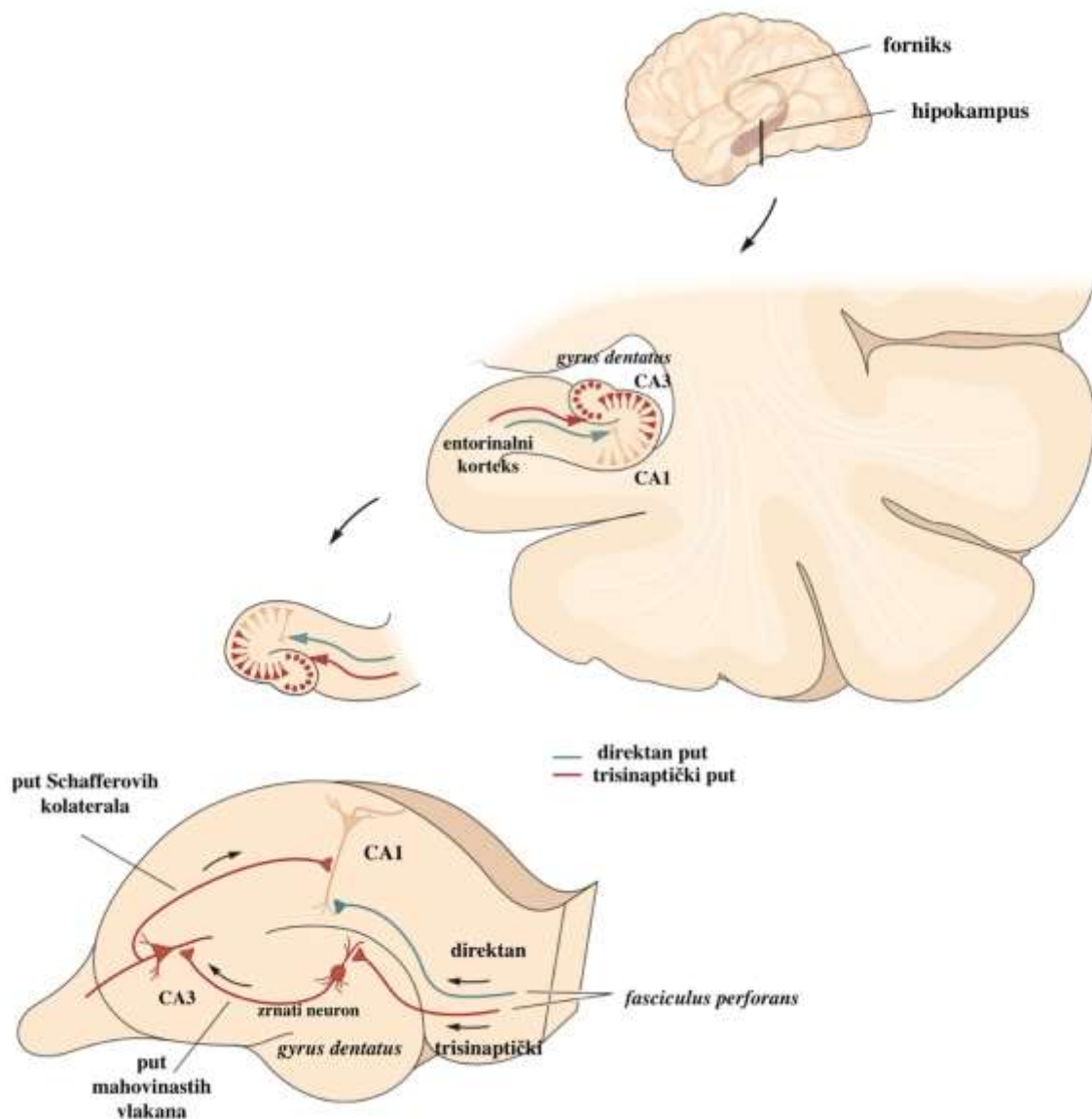
Budući da je fokus ovog završnog rada utjecaj crijevnog mikrobioma na deklarativno pamćenje, tj. na učenje i pamćenje povezano s hipokampusnom formacijom, prvo ću opisati građu hipokampusne formacije, nakon čega ću reći nešto o nastanku dugoročnog pamćenja i procesima koji su uključeni u to.

2.1. HIPOKAMPUSNA FORMACIJA

Hipokampusna formacija je moždana struktura smještena u medijalnom temporalnom režnju (Rodríguez-Iglesias i sur. 2019). Visoko konzervirana među sisavcima, ta se formacija sastoji od četiri zasebne strukture: entorinalni korteks, subikularni kompleks, *gyrus dentatus* (GD) i *hippocampus proper*, koji se pak sastoji od tri polja *cornu ammonis* (CA1, CA2, CA3) (Amaral & Witter, 1989). Korteks hipokampusne formacije sastoji se od tri sloja i spada u tzv. *archicortex*. Najdublje je smješten polimorfni sloj koji se sastoji od aferentnih i eferentnih vlakana i interneurona. Iznad njega se nalazi stanični sloj, zvan *stratum granulare* u GD-u, jer je građen od zrnatih neurona, a *stratum pyramidale* u poljima CA i subikulumu, jer se sastoji od piramidnih neurona. Najviše površinski nalazi se molekularni sloj. Osjetne informacije iz kortikalnih područja dopijevaju u hipokampusnu formaciju najvećim dijelom preko entorinalnog korteksa (Van Strien i sur. 2009).

Postoji direktan i indirektan put kojim se informacije prenose iz entorinalnog korteksa do CA1 neurona, koji predstavljaju glavno izlazno područje hipokampusu (Slika 1.). Indirektan se put još naziva i trisinaptički put, a započinje s prvim neuronom koji je smješten u entorinalnom korteksu. Aksoni tih neurona formiraju *fasciculus perforans*, a tvore sinapse sa znatim neuronima u GD-u. Ti su neuroni drugi neuroni trisinaptičkog puta, a njihova vlakna, koja se nazivaju mahovinasta, završavaju na piramidnim neuronima polja CA3, što su treći neuroni puta. Aksoni piramidnih neurona nose poseban naziv Schafferovih kolaterala te sinaptički završavaju na piramidnim neuronima polja CA1. Entorinalni korteks projicira i direktno na polja CA3 i CA1. Piramidne stanice polja CA1 u konačnici projiciraju natrag na entorinalni

korteks kao i na subikulum, preko kojeg je hipokampus povezan s brojnim moždanim regijama (Kandel i sur. 2021).



Slika 1. Direktan i trisinaptički put prijenosa informacija iz entorinalnog korteksa do piramidnih neurona u polju CA1. U direktnom putu aksoni neurona entorinalnog korteksa izravno uspostavljaju sinapse s neuronima polja CA1. U trisinaptičkom putu akson neurona entorinalnog korteksa uspostavlja sinapsu sa znatim stanicama GD-a (*fasciculus perforans*), koji zatim uspostavljaju sinapse sa piramidnim stanicama polja CA3 (put mahovinastih vlakana). Zadnju sinapsu tog puta uspostavljaju aksoni CA3 neurona s piramidnim neuronima polja CA1 (put Schafferovih kolaterala) (preuzeto i prilagođeno iz knjige Kandel i sur. 2021)

2.2. NASTANAK DUGOROČNOG PAMĆENJA

Formacija hipokampusa i prefrontalni korteks dvije su moždane strukture bitne za nastanak dugoročnog eksplicitnog pamćenja. To je proces koji se sastoji od nekoliko koraka. Prvi korak u nastanku dugoročnog pamćenja je kodiranje (eng. *encoding*), tijekom kojeg se stječu i obrađuju nove informacije. Ovo je ključni korak koji određuje koliko će dobro neka informacija biti pohranjena. Slijedi korak pohrane (eng. *storage*) i korak konsolidacije (eng. *consolidation*) pamćenja. Konsolidacija omogućava osnaživanje i stabilizaciju početno nestabilnog oblika pamćenja, te osigurava da određene vrste smetnji ne uzrokuju gubitak toga pamćenja. Zadnji je korak prisjećanje (eng. *retrieval*), korak vraćanja pohranjene informacije (Kandel i sur. 2021). Iako se početno mislilo da nakon konsolidacije pamćenje postaje toliko stabilno, da nikakvo naknadno prisjećanje ne utječe na njega, danas je općeprihvaćeno da prisjećanje uzrokuje reaktivaciju tog sjećanja, tijekom kojeg ono postaje ponovno prolazno labilno, tj. podložno promjenama. Smatra se da rekonsolidacija dovodi do dodatnog osnaživanja reaktiviranog pamćenja, bez mijenjanja izvornog sadržaja, iako postoje i teorije da ono sudjeluje u stvaranju novih asocijacija, tj. novih sjećanja (Bisaz i sur. 2014).

Iako je u početnom nastanku dugotrajnog deklarativnog pamćenja ključan hipokampus, pamćenje kasnije ne ostaje pohranjeno u njemu. Naprotiv, smatra se da je mjesto pohrane dugoročnog eksplicitnog pamćenja cerebralni korteks, pri čemu pojedina područja pohranjuju specifične aspekte ili dijelove nekog sjećanja. To ujedno omogućuje prihvaćanje određene epizode koristeći različite okidače, bili oni vizualni, olfaktorni ili drugi.

Formiranje novih dugoročnih pamćenja temelji se na nekoliko različitih procesa poput sinaptičke plastičnosti, epigenetičkih promjena, strukturnih promjena neurona, te neurogeneze (Kandel i sur. 2021).

2.3. SINAPTIČKA PLASTIČNOST

Općenito se smatra da iskustvom nastaju promjene primarno na razini sinapse. Sinaptička plastičnost je proces kojim se mijenja jakost sinapse između dva neurona, ovisno o njezinoj aktivnosti, i proces je koji je ključan za učenje i pamćenje. Taj je proces prisutan u cijelom mozgu, ne samo u hipokampusu, a postoji i velik broj različitih oblika. Najčešće spominjan, kao i najbolje proučavan je ipak dugoročna potencijacija (eng. *long-term potentiation*, LTP), proces koji je otkriven u hipokampusu tetaničkim podraživanjem perforantnog puta. LTP je

proces u kojem u odgovoru na specifične načine podraživanja dolazi do dugotrajnih promjena i pojačanja sinaptičke snage (Kandel i sur. 2021). Postoji velik broj različitih tipova LTP, no oni se općenito dijele na NMDAR-ovisne i NMDAR-neovisne (Alkadhi, 2021). Upravo je NMDAR-ovisan LTP osnova Hebbovske plastičnosti, prema kojoj istodobna aktivnost presinaptičkog i postsinaptičkog neurona dovodi do jačanja sinapse između ta dva neurona (Kandel i sur. 2021).

2.4. BDNF

Moždani neurotrofni čimbenik (eng. *brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) član je porodice neurotrofnih čimbenika, od kojih je upravo on najšire eksprimiran u mozgu sisavaca. Nakon oslobađanja egzocitozom, taj faktor rasta može djelovati autokrino ili parakrino, pri čemu svoje učinke ostvaruje vezanjem na dva receptora. Od njih, TrkB receptor impliciran je u gotovo svim učincima BDNF-a. Ovaj čimbenik rasta najviše je eksprimiran u moždanim područjima uključenim u kognitivne procese, poput hipokampusu, neokorteksa, cerebeluma, striatuma i amigdale. BDNF je nužan za diferencijaciju i preživljenje neurona, a obavlja i ulogu regulacije sinaptogeneze i sinaptičke plastičnosti. BDNF je također nužan za indukciju LTP-a, kao i za kasnu fazu LTP-a, a esencijalan je i za formaciju dugoročnih pamćenja (Cunha i sur. 2010).

2.5. ADULTNA HIPOKAMPUSNA NEUROGENEZA

Adultna hipokampusna neurogeneza (eng. *adult hippocampal neurogenesis*) proces je nastanka novih neurona u hipokampusnoj formaciji odraslih organizama. Iako još uvijek ne postoji konsenzus o tome odvija li se takav proces u odraslih ljudi, on je dobro istražen u glodavcima. Naime, u odraslih glodavaca subgranularna zona (eng. *subgranular zone*, SGZ) GD-a u hipokampusnoj formaciji jedno je od dva mjesta gdje se neurogeneza i dalje odvija kasnije u životu. SGZ se definira kao neurogenična niša, u kojoj su smještene neuralne matične stanice (eng. *neural stem cells*, NSC). Važno obilježje neuralnih matičnih stanica je da su to samoobnavljajuće multipotentne stanice iz kojih mogu nastati neuroni ili glija stanice. Novi neuroni nastaju aktivacijom neuralnih matičnih stanica specifičnim signalima, nakon čega se te stanice dijele i prolaze kroz specifične razvojne stadije, uz konačan nastanak nezrelih granularnih stanica. Te stanice prolaze kroz proces sazrijevanja tijekom kojeg istodobno

migriraju od dubljih dijelova granularne zone prema molekularnom sloju. Pri toj migraciji, oni uspostavljaju sinapse s okolnim neuronima čime se integriraju u postojeće neuronske mreže. Novonastali neuroni igraju ulogu u prostornom i kontekstualnom pamćenju, a osobito su bitni razlikovanju obrazaca (eng. *pattern separation*), tj. mogućnosti razlikovanja sličnih, ali odvojenih podražaja ili informacija (Domínguez-Rivas i sur. 2021).

3. MIKROBIOM I MIKROBIOTA

Kada su skovali riječ mikrobiom, Lederberg i Mccray su ga definirali kao zajednicu simbiotskih, komenzalnih i patogenih mikroorganizama koja nastanjuje neki dio tijela (Lederberg i Mccray, 2001). Ipak, u današnje se doba radi jasna distinkcija između pojmova mikrobiota i mikrobiom. Dok mikrobiota označava sve žive organizme koji čine mikrobiom, sam mikrobiom je znatno širi pojam koji uz mikrobnu zajednicu obuhvaća i njihov „*theatre of activity*”, dakle molekule koje ta zajednica proizvodi, kao i pokretne genetičke elemente, poput ekstracelularne DNA i virusa koji se ne ubrajaju u samu mikrobiotu (Berg i sur. 2020).

Crijevna mikrobiota (eng. *gut microbiota*) je kompleksna zajednica mikroorganizama koji nastanjuju probavnu cijev, a odlikuje se najvećom raznolikošću i abundancijom. Ta mikrobna zajednica nastaje kolonizacijom prilikom i nakon rođenja, te se formira u prvih par godina života. Kakav će biti uspostavljeni sastav crijevne mikrobiote ovisi o mnogostrukim čimbenicima, poput genetike pojedinca, načina porođaja, okolišnih faktora, prehrane, uporabe antibiotika i slično (Bercik i sur. 2012).

Prema tome, sastav mikrobioma može jako varirati čak i unutar iste vrste. Primjerice, kod ljudi, svaki pojedinac sadrži više od tisuću filotipova u svojem crijevnom mikrobiomu. Iako u većini ljudi dominiraju bakterije koljena *Bacteroidetes* i *Firmicutes*, te se i bakterije koljena *Actinobacteria*, *Proteobacteria* i *Verrucomicrobia* mogu naći kod većine (Eckburg i sur. 2005), relativna zastupljenost kao i prisutne vrste jako se razlikuju između pojedinaca (Lozupone i sur. 2012). Iz toga se razloga sve više napušta ideja da postoje određene vrste bakterija koje dijele svi zdravi pojedinci, već se umjesto toga govori o funkcionalnoj jezgri mikrobioma. Zbog funkcionalne redundantnosti mikrobnih vrsta, čak i značajno različiti mikrobiomi mogu obavljati istu ulogu u organizmu (Lozupone i sur. 2012).

Raznolikost mikrobioma između pojedinih vrsta sisavaca je velika, i kao što je za očekivati, znatno veća nego intraspecijska raznolikost. Odnosi između mikrobioma pojedinih vrsta sisavaca odražavaju filogenetičke odnose svojih domaćina, što se naziva filosimbiozom. Istraživanja metaboloma pokazala su kako se takve razlike u kompoziciji preslikavaju i na razliku u funkcionalnosti, te je filosimbioza prema tome bila vidljiva i na razini metaboloma (Gregor i sur. 2022).

3.1. OS MIKROBIOM-CRIJEVO-MOZAK

Os crijevo-mozak (eng. *gut-brain axis*, GBA) definira se kao dvosmjerni sustav komunikacije između probavnog sustava i središnjeg živčanog sustava (Bercik i sur. 2012), koji je u posljednjih par desetljeća postao fokus u mnogim znanstvenim istraživanjima (Miller, 2018). Misao o intrinzičnoj povezanosti cijelog tijela, i tendencija razmatranja tijela kao cjeline datiraju još iz stare Grčke (Margolis i sur. 2021). Nedavnije, holistički pristup ljudskom zdravlju bio je zastupljen u zapadnom svijetu tijekom 18. i 19. stoljeća, pri čemu je upravo probavni sustav došao u fokus, kao potencijalni uzrok širokog raspona mentalnih stanja i emocija, ali i potencijalno područje terapije. Tijekom 20. stoljeća holizam je većinski ustupio mjesto redukcionizmu, i sklonosti promatranju i proučavanju pojedinih dijelova tijela kao zasebnih i nezavisnih (Miller, 2018). Unatoč tome, 20. stoljeće bilo je razdoblje intenzivnih istraživanja koja su ukazala na intrinzičnu povezanost crijeva i mozga, kao i na bitnu ulogu mikrobioma u toj komunikaciji. Iz tog se razloga sve češće govori o osi mikrobiom-crijevo-mozak (eng. *microbiome-gut-brain axis*, MGB axis) (Lewandowska-Pietruszka i sur. 2022).

Očekivano, jedna od uloga osi crijevo-mozak je u održanju gastrointestinalne homeostaze, pri čemu mozak, ovisno o raspoloživim informacijama, regulira gastrointestinalnu pokretljivost, proizvodnju mucina i sekreciju (Mayer, 2011). Međutim, ta je os ujedno i bitan put kojim mikrobiom utječe na više kognitivne funkcije, poput emocija i raspoloženja, učenja i pamćenja, kao i na sam razvoj enteričkog i središnjeg živčanog sustava (Cryan & Dinan, 2012).

3.2. UTJECAJ MOZGA NA CRIJEVA

Mozak signalizira probavnom sustavu preko nekoliko paralelnih sustava koji uključuju autonomni živčani sustav, os hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda, simpatičko-adrenalnu os te silazne monoaminergične puteve. Pri tome postoje dvije glavne moždane

strukture iz kojih se informacije šalju prema probavnom sustavu, a to su hipotalamus i amigdala, koje same primaju integrirane multimodalne informacije o tjelesnim stanjima, uključujući informacije o homeostazi crijeva, unosu hrane i visceralnoj boli. Osobito značajni u moždanoj regulaciji probavne funkcije su dvije grane autonomnog živčanog sustava, parasimpatički, koji općenito djeluje aktivirajuće, te simpatički živčani sustav, koji djeluje inhibirajuće na probavnu cijev (Mayer, 2011).

2.3. UTJECAJ CRIJEVA NA MOZAK

Ključni prvi korak u uzlaznoj signalizaciji od probavnog sustava prema mozgu je percipiranje i kodiranje informacija koje će se prenositi. Tri su glavna načina kojima je to omogućeno: primarnim aferentnim neuronima, imunostimuliranim stanicama, i enteroendokrinim stanicama (Slika 2.) (Mayer, 2011).

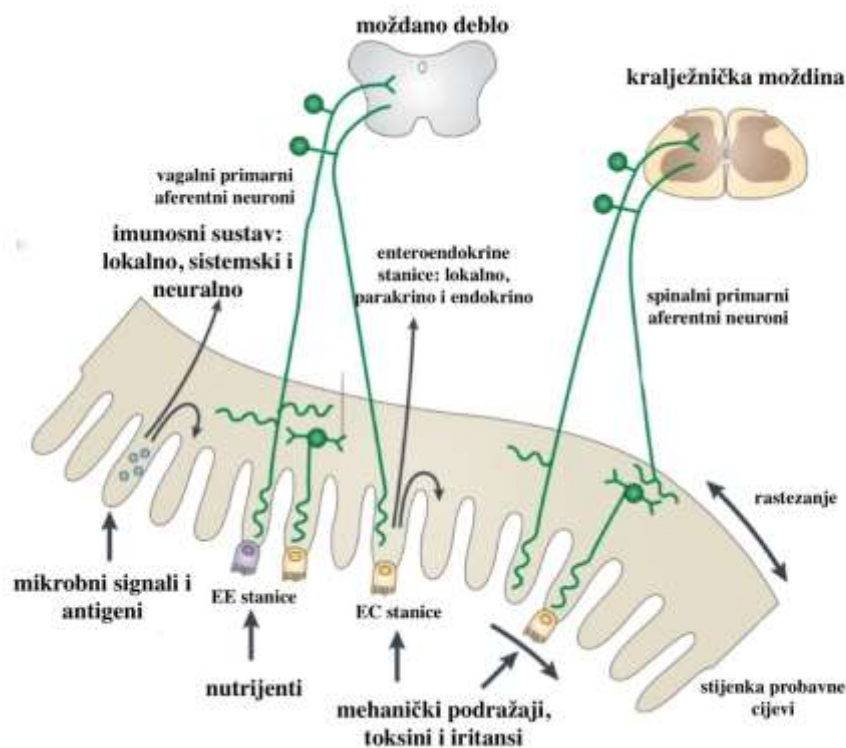
Primarni aferentni neuroni koji inerviraju gastrointestinalni sustav dijele se na ekstrinzične (vagusni i spinalni) i intrinzične (eng. *intrinsic primary afferent neuron*, IPAN). Signali koji se prenose živcima su mehanički, nastali distenzijom i kontrakcijom probavne cijevi, te kemijski, koji se detektiraju posredno, preko zasebnih stanica u lamini proprijii (Mayer, 2011).

Intrinzični primarni aferentni neuroni, kojih ima u značajno većem broju, spadaju u enterički živčani sustav, te čine prve neurone enteričkih refleksnih puteva (Clerc i Furness, 2004). Upravo enterički živčani sustav (eng. *enteric nervous system*, ENS), koji predstavlja najveću komponentu perifernog živčanog sustava, igra ključnu ulogu u uzlaznoj signalizaciji u sklopu osi MGB. Otkriven već tijekom devetnaestog stoljeća, ENS se često naziva i drugim mozgom zbog svoje veličine, kompleksnosti kao i autonomnosti. ENS se sastoji od velikog broja neurona koji su većinski raspoređeni u ganglije unutar dva spleta, podsluzničnog (*plexus submucosus*, *Meissneri*) i mijenteričnog (*plexus myentericus*, *Auerbachii*). Ti su spletovi prisutni duž tankog i debelog crijeva, u podsluznici, tj. u mišićnom sloju stijenke (Furness, 2006). Osobito značajna je autonomnost enteričkog živčanog sustava, pri čemu on može refleksno regulirati mnoge funkcije probavne cijevi nezavisno od središnjeg živčanog sustava. Neke od funkcija koje su refleksno regulirane od strane ENS-a su pokretljivost probavne cijevi, prokrvljenost, te lučenje hormona (Furness, 2006).

Drugi put percepcije signala su enteroendokrine stanice koje, iako difuzno raspoređene kroz stijenku probavne cijevi, zajedno čine najveći endokrini organ u tijelu ljudi. Enteroendokrine stanice (eng. *enteroendocrine cells*, EEC) omogućuju integraciju kemijskih i mehaničkih

signala iz lumena crijeva, a signalizaciju ostvaruju lučenjem različitih vrsta hormona. Izlučenim molekulama djeluju na živčane završetke ENS-a ili vagusnog živca, ili pak endokrino ostvaruju utjecaj na središnji živčani sustav. Bitna značajka enteroendokrinih stanica je njihova multimodalna osjetljivost, pri čemu jedna stanica ima receptore za, i može odgovarati na različite podražaje, a upravo ta im značajka omogućuje integraciju signala (Mayer, 2011).

Treći način uzlazne signalizacije ostvaruje se putem limfnog tkiva crijeva (eng. *gut-associated lymphoid tissue*, GALT), koje sačinjava čak 70-80% imunskih stanica u tijelu čovjeka. Tako veliki broj možda i ne začuđuje, s obzirom na činjenicu da je probavna cijev mjesto površinski najvećeg kontakta s vanjskim svijetom, gdje granicu čini samo jedan sloj cilindričnih epitelnih stanica, i gdje imunski sustav mora omogućiti razlikovanje komenzalnih od patogenih mikroorganizama (Mayer, 2011).

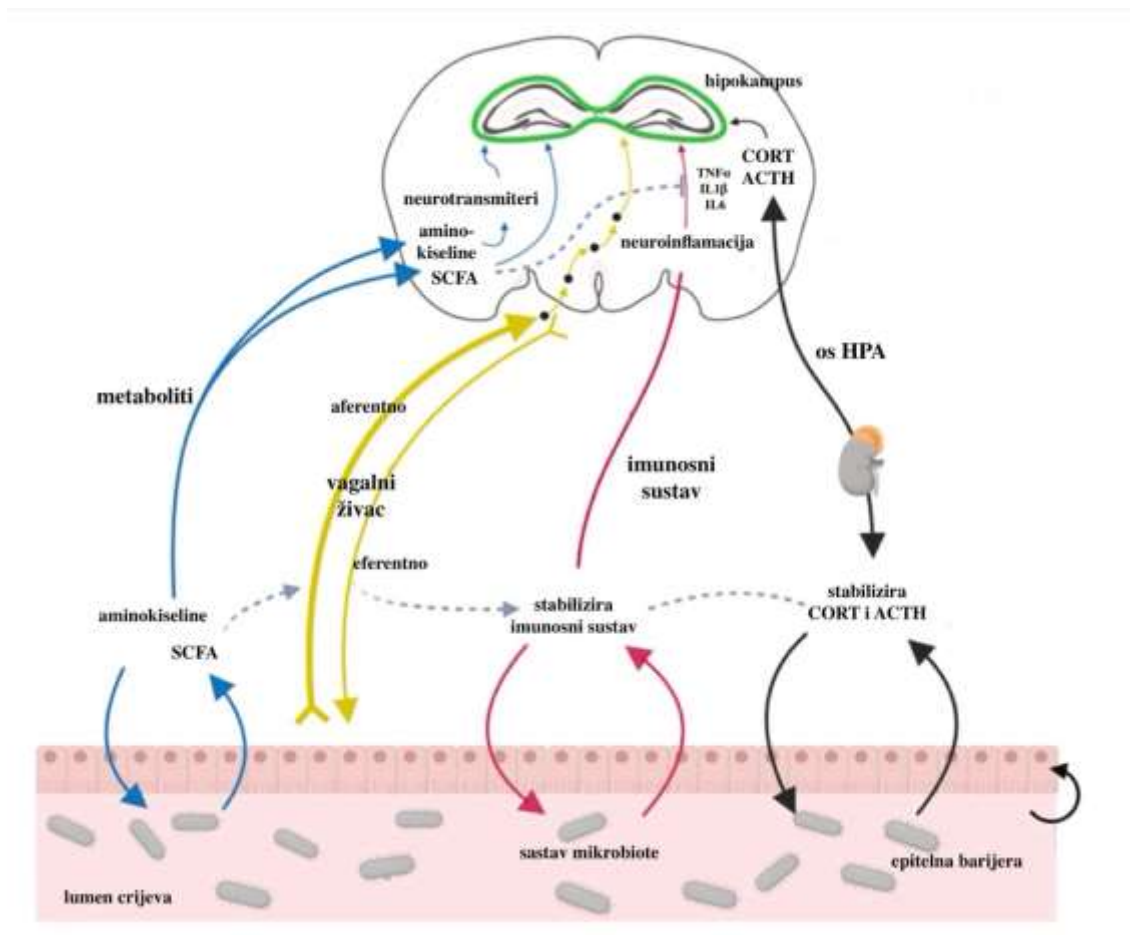


Slika 2. Uzlazna signalizacija iz probavnog sustava prema središnjem živčanom sustavu. Aferentna signalizacija ostvaruje se preko vagusa i spinalnih živaca, preko enteroendokrinih stanica i imunskog sustava. Informacije koje se tako prenose su kemijske i mehaničke naravi (preuzeto i prilagođeno iz Mayer 2011).

3.4. ČETIRI PUTA DJELOVANJA MIKROBIOMA NA HIPOKAMPUS

Unatoč složenosti i isprepletenosti osi mikrobiom-crijevo-mozak preko koje mikrobiota ostvaruje svoj učinak na hipokampus, radi preglednosti taj će se utjecaj opisati preko četiri različita puta (Slika 3.):

1. preko utjecaja mikrobiote na aktivnost vagusa
2. preko modulacije osi HPA
3. preko utjecaja na imunوسي sustav
4. preko izlučenih metabolita koji ostvaruju izravan utjecaj na hipokampus (Kuijer & Steenbergen, 2023).



Slika 3. Mikrobiota ostvaruje svoj utjecaj na hipokampus preko četiri međusobno povezana puta: metaboliti, živac vagus, imunوسي sustav i os hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (HPA) (preuzeto i prilagođeno iz Kuijer i Steenbergen 2023).

4. N .VAGUS

Prvi način na koji crijevni mikrobiom utječe na hipokampus je preko vagusnog živca, koji je jedan od dva živčana puta kojim se informacije prenose od probavnog do središnjeg živčanog sustava, pri čemu je drugi put spinalni. I jedan i drugi sustav aferentne inervacije čine primarni aferentni neuroni čija su tijela smještena izvan probavne cijevi, pa se stoga nazivaju ekstrinzični, za razliku od prethodno spomenutih intrinzičnih primarnih aferentnih neurona koji su dio enteričkog živčanog sustava. Bitna distinkcija dva navedena puta je tip informacija koji prenose prema SŽS-u, pri čemu spinalni živci prenose većinski nociceptivne informacije, dok se informacije o sastavu hrane i distenziji želuca prenose vagusnim živcem. Vagusom se prenose i informacije o prisutnosti molekularnih obrazaca povezanih s mikroorganizmima (eng. *microbe-associated molecular patterns*, MAMP) u probavnoj cijevi, o kojima će nešto više biti rečeno u odlomku o imunom sustavu (Gershon i Margolis, 2021).

Nervus vagus deseti je kranijalni živac koji se sastoji od 80% aferentnih i 20% eferentnih vlakana (Bonaz i sur. 2018), a predstavlja glavni aferentni put prijenosa informacija od organa trbušne šupljine prema središnjem živčanom sustavu (Forsythe i sur. 2014). Upravo je ta aferentna grana vagusa bitna u ostvarivanju utjecaja mikrobioma na hipokampus. Jezgre primarnih aferentnih pseudounipolarnih neurona smještene su u jugularnom i nodoznom gangliju, a ostvaruju sinapse s neuronima u solitarnoj jezgri u moždanom deblu (Gershon i Margolis, 2021), koja predstavlja glavno središte integracije tog aferentnog puta (Olsen i sur. 2023). Neuroni solitarne jezgre zatim šalju aksone u glavni noradrenergični centar mozga, *locus coeruleus*, koji projicira u različite druge dijelove mozga, uključujući i one povezane s učenjem i pamćenjem, kao što su amigdala i hipokampus (Olsen i sur. 2023).

4.1. UTJECAJ MIKROBIOMA NA VAGUS

Živčani završeci vagusnog živca nikako ne prelaze epitelni sloj stijenke probavne cijevi, pa stoga ne ostvaruju direktan kontakt s mikrobiomom u lumenu. Mikrobiom stoga ostvaruje svoj učinak na vagus ili preko metabolita koji difundiraju kroz epitelni sloj do živčanih završetaka ili preko samih epitelnih stanica (Bonaz i sur. 2018).

Indirektan put signalizacije je preko prethodno spomenutih enteroendokrinih stanica koje su raspršene dužinom probavne cijevi. Enteroendokrine stanice odgovaraju na široki raspon tvari u lumenu, primjerice na nutrijente, toksine, i od posebnog značaja, na bakterije i bakterijske

metabolite, te svojom aktivacijom i egzocitozom peptidnih hormona osiguravaju adekvatan odgovor na supstance prisutne u probavnom sustavu. Hormon koji otpuštaju može djelovati parakrino ili endokrino, a jedan od mnogih nizvodnih efektor tih stanica je upravo vagus, na koji mogu djelovati direktno i indirektno. Direktne se interakcije ostvaruju preko spojeva nalik sinapsama, dok EEC indirektno utječu na vagus preko otpuštenih hormona, poput kolekistokinina, peptida YY i glukagonu sličnog peptida-1 (GLP-1), za koje vagus ima receptore na živčanim završecima (Latorre i sur. 2016).

Vagus može i direktno osjetiti metabolite koje otpusti mikrobiota, a koji difundiraju kroz epitelni sloj, poput kratkolančanih masnih kiselina. Vagus također, poput enteroendokrinih stanica, ekspirira receptore slične Tollu (eng. *Toll-like receptors*, TLR) bitne za detekciju bakterijskih komponenti poput lipopolisaharida (eng. *lipopolysaccharide*, LPS) (Bonaz i sur. 2018).

Izravan dokaz da mikrobiom može utjecati na aktivnost vagusa pruža i istraživanje u kojem je u lumen jejunalnog segmenta *ex vivo* injektirana bakterija *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) što je dovelo do povećanja aktivnosti aferentnih vlakana vagusnog živca (Perez-Burgos i sur. 2013).

4.2. UČINAK VAGUSA NA HIPOKAMPUS

Istraživanja koja pokazuju da vagus ima značajan utjecaj na učenje i pamćenje povezano s hipokampusom su ona koja primjenjuju tehniku stimulacije živca vagusa (eng. *vagus nerve stimulation*, VNS). Stimulacija živca vagusa poboljšava pamćenje, dovodi do promjena u sinaptičkoj plastičnosti u hipokampusu, povećava ekspresiju neurotrofina BDNF te potiče hipokampusnu neurogenezu (Olsen i sur. 2023).

Nadalje, subdijafragmalna vagotomija, procedura u kojoj se živac vagus reže ispod dijafragme, u štakora uzrokuje poremećaje u prostornom i kontekstualnom epizodičnom pamćenju (Suarez i sur. 2018). To ukazuje na ključnu ulogu koju signalizacija vagusom igra u formaciji određenih vrsta pamćenja.

4.3. UTJECAJ MIKROBIOMA NA HIPOKAMPUS POSREDSTVOM VAGUSA

U proučavanju utjecaja mikrobiote na hipokampus na način koji je ovisan o vagusu, osobito su značajna istraživanja u kojima se radi transplantacija fekalne mikrobiote, što je intervencija u kojoj se fekalna mikrobiota direktno iz probavnog sustava zdravog donora prenosi u probavni sustav recipijenta koji boluje od disbioze (Marcondes Ávila i sur. 2020).

Rei i sur. (2022) pokazali su kako fekalna transplantacija iz starih miševa ili starih ljudskih donora u mlade miševе dovodi do poremećaja u pamćenju povezanom s hipokampusom, a rezultira i smanjenom hipokampusnom neurogenezom te povećanom astrogliozom. U tim se miševima otkrila smanjena aktivnost vagusa, a intervencija kojom se povećala aktivnost aferentnih vlakana vagusa suzbila je negativne efekte transplantacije fekalne mikrobiote iz starih donora. Nadalje, aktivacija aferentnog vagusa poboljšala je i pamćenje ostarjelih miševa (Rei i sur. 2022).

Siopi i sur. (2023) pokazali su da transplantacija fekalne mikrobiote iz miševa podvrgnutih proceduri UCMS (eng. *unpredictable chronic mild stress*) u zdrave miševе dovodi do aktivacije vagusa te promjena u dopaminskom i serotoninском signaliziranju u hipokampusu i moždanom deblu, a rezultira i smanjenom neurogenezom te povećanom neuroinflamacijom u hipokampusu. Zanimljivo, takvi učinci fekalne transplantacije izostaju kod miševa sa subdijafragmalnom vagotomijom (Siopi i sur. 2023).

5. OS HPA

Prema GUTS (eng. *Generalized Unsafety Theory of Stress*) teoriji stresni odgovor je *default* pozicija, u smislu da je to odgovor koji je normalno aktivan u odsustvu signala sigurnosti. Tek u prisustvu takvih signala prefrontalni korteks djeluje inhibitorно na moždane strukture uključene u stresni odgovor te ih inhibira. Na taj način stresni odgovor ne nastaje samo u odgovoru na stresore u okolini, već i u odsustvu signala sigurnosti. Takav mehanizam kontrole, koji se temelji na disinhibiciji, a ne na aktivaciji, raširen je u mozgu (Brosschot i sur. 2018).

Stresni odgovor uključuje nekoliko sustava. U odgovoru na stresne podražaje iz okoline prvo se aktivira simpatički živčani sustav koji dovodi do povećanog izlučivanja adrenalina i

noradrenalina iz srži nadbubrežne žlijezde. Povećana koncentracija katekolamina uzrokuje povećanu srčanu frekvenciju, ubrzano disanje, te povišen krvni tlak, tj. simptome koji se tipično povezuju sa stresom (Welling i Shackelford, 2019).

Drugi sustav koji je uključen u stresni odgovor, a sporije se aktivira je os hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (eng. *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*, HPA). To je neuroendokrini sustav kontrole izlučivanja glukokortikoida iz nadbubrežnih žlijezda. Os HPA započinje s izlučivanjem hormona koji stimulira kortikotropin (eng. *corticotropin-releasing hormone*, CRH) iz neurona čija su tijela smještena u paraventrikularnoj jezgri hipotalamusa. Taj se hormon iz živčanih završetaka neurona otpušta u hipotalamo-hipofizni portalni sustav, kojime dopijeva do adenohipofize. Svoj učinak ostvaruje vežući se za svoje receptore na površini kortikotropnih stanica adenohipofize, u kojima potiče lučenje hipofiznog adrenokortikotropnog hormona (eng. *adrenocorticotropic hormone*, ACTH). Os se nastavlja utjecajem ACTH na stanice kore nadbubrežne žlijezde u kojima potiče lučenje glukokortikoida, primarno kortizola i kortikosterona (Spencer i Deak, 2017).

Glukokortikoidi na razini organizma djeluju tako da uzrokuju prebacivanje metabolizma na iskorištavanje masti i proteina kao izvora energije, te potiču glukoneogenezu i povisuju razinu glukoze u krvi, a imaju i značajne protuupalne i imunosupresivne efekte (Vegiopoulos i Herzig, 2007). Osim što djeluju na metabolizam, glukokortikoidi prolaze kroz krvno-moždanu barijeru (Spencer i Deak, 2017), i time vrše učinak na mozak, a osobito na hipokampus, koji ima visoku koncentraciju receptora za glukokortikoide (Reul i De Kloet, 1985).

5.1. UTJECAJ MIKROBIOMA NA OS HPA

Stres, djelujući preko nekoliko različitih mehanizama, uključujući imunosni sustav, povišene razine katekolamina, i utjecaj na integritet intestinalne barijere, uzrokuje promjene u kompoziciji crijevne mikrobiote te može dovesti do razvitka disbioze (de Weerth, 2017). Međutim, odnos između stresnog sustava i crijevnog mikrobioma je dvosmjernan, i mikrobiom može modulirati stresni odgovor. Istraživanja pokazuju kako suplementacija sojem *L. helveticus* NS8 uzrokuje smanjenje razine kortikosterona i ACTH u krvi (Liang i sur. 2015), a slično je i administracija *Bifidobacterium adolescentis* IM38 dovela do smanjenja razine kortikosterona (H. M. Jang i sur. 2018).

Os HPA je u ranom životu osobito osjetljiva, a jedan od čimbenika za koji se pokazalo da igra ključnu ulogu u uspostavi funkcionalne osi HPA je crijevni mikrobiom. Taj je učinak osobito

izražen u GF (eng. *germ-free*) životinjama, što su životinje koji ne posjeduju vlastiti mikrobiom. GF miševi u odgovoru na stresni podražaj imaju znatno povišene razine ACTH i kortikosterona u odnosu na SPF (eng. *specific pathogen free*) miševe, te pokazuju preaktivan stresni odgovor putem HPA osi (Sudo i sur. 2004). Nadalje, stres u ranom životu uzrokuje razvitak disbioze koja ima negativan utjecaj na razvoj normalne osi HPA (Frankiensztajn i sur. 2020).

5.2. UTJECAJ OSI HPA NA HIPOKAMPUS

Neuroni hipokampusa imaju izrazito visoku koncentraciju glukokortikoidnih i mineralokortikoidnih receptora, dvije vrste receptorskih sustava na koji se glukokortikoidi vežu (Reul i De Kloet, 1985). Ta činjenica ukazuje da bi glukokortikoidi, tj. hormoni stresa, mogli igrati potencijalno važnu ulogu u formaciji pamćenja. Poznato je da emocionalno nabijena iskustva ostavljaju trajniji utisak od emocionalno neutralnih iskustava, te da dovode do formacije trajnijih sjećanja, bila ona pozitivna ili negativna. Funkcija oblika obrnutog slova U opisuje odnos između razine stresa i efikasnosti pohrane sjećanja; umjerena razina stresa nužna je kako bi nastalo dugotrajnije i snažnije sjećanje, međutim, kronični stres ili abnormalno visoke razine hormona stresa dovode do poremećaja u pamćenju. To podupire i činjenica da su signalni putevi nizvodno od glukokortikoidnih receptora nužni za konsolidaciju pamćenja, ali ponovno, ukoliko je razina hormona u normalnom rasponu. S druge strane, izloženost kroničnim stresorima negativno utječe na pamćenje, te dovodi čak i do strukturnih promjena u hipokampusu, tj. do retrakcije i atrofije dendrita neurona (Bisaz i sur. 2014).

5.3. UČINAK MIKROBIOMA NA HIPOKAMPUS PUTEM OSI HPA

Izloženost stresorima dovodi do nastanka poremećaja u učenju i pamćenju, a da je to učinak kojem posreduje crijevni mikrobiom, pokazuju istraživanja s administracijom probiotika. Tako su Liang i sur. (2015) pokazali kako izlaganje odraslih miševa kroničnom stresu uzrokuje anksiozno i depresivno ponašanje, kao i poremećaje u pamćenju. U tim su miševima detektirane povišene razine hormona stresa, proupalnih citokina, te smanjena razina BDNF-a u hipokampusu. Suplementacija probiotikom *Lactobacillus helveticus* spriječila je većinu tih promjena uzrokovanih kroničnom izloženošću stresu (Liang i sur. 2015).

Gareau i sur. (2011) pokazali su da psihološki stres uz istodobnu izloženost bakterijskoj infekciji dovodi do poremećaja u učenju i pamćenju, pri čemu inficirani miševi bez primjene stresora nisu pokazivali promjene u tim kognitivnim funkcijama. Dnevna administracija probiotika spriječila je navedene negativne promjene, uz uspostavu normalne ekspresije BDNF i c-Fos u hipokampusu, koja je bila smanjena u miševa koji nisu bili tretirani probioticima (Gareau i sur. 2011).

Nadalje, pokazalo se kako je stres povezan s povećanjem intestinalne permeabilnosti. Takva promjena rezultira povećanjem translokacije bakterija iz lumena crijeva u organizam, što dovodi do razvoja sistemske upale, koja zatim dodatno povećava intestinalnu permeabilnost, u svojevrsnom začaranom krugu (Kelly i sur. 2015). Takvo upalno stanje potiče i nastanak neuroinflamacije, za koju se pokazalo da uzrokuje promjene u hipokampusu. Czerniawski i sur. (2014) pokazali su da akutna neuroinflamacija, inducirana injekcijom LPS u miševе, dovodi do poremećaja u pamćenju vezanom za diskriminaciju konteksta (Czerniawski i Guzowski, 2014).

6. IMUNOSNI SUSTAV

Jedna je od glavnih funkcija imunosnog sustava obrana organizma od stranih patogena. Kako bi mogao obavljati svoju ulogu, imunosni sustav mora imati sposobnost razlikovanja patogenih od komenzalnih mikroorganizama, kao i svojstvo nereaktivnosti ne samo na vlastito nego i na oko tisuću vrsta mikroba prisutnih u probavnom sustavu, koji su od imunosnih stanica mukoze odvojeni samo jednim slojem epitelnih stanica (Macpherson i sur. 2005).

Tradicionalno spominjani u okviru obrane od patogena i začinjanja upalnog procesa, receptori za prepoznavanje obrazaca (eng. *pattern recognition receptors*, PRR) su receptori eksprimirani na stanicama urođenog imunosnog sustava koji prepoznaju određene konzervirane mikrobne molekule zvane MAMP (eng. *microbe-associated molecular patterns*). Međutim, MAMP-ovi su, kao što ime kaže, visoko očuvani molekularni obrasci, široko rasprostranjeni među mikrobima, te ih stoga posjeduju, ne samo patogeni, već i komenzalni mikroorganizmi (Chu i Mazmanian, 2013). Prema tome, PRR-ovi na imunosnim stanicama su kontinuirano izloženi MAMP-ovima podrijetlom od komenzalnih mikroorganizama, koji aktivacijom tih receptora u normalnim okolnostima ne izazivaju upalni odgovor, već čak mogu ostvariti protuupalne

učinke (Chu i Mazmanian, 2013). Do kojeg će od ova dva oprečna učinka doći aktivacijom tih receptora prvenstveno određuju okolnosti u kojima dolazi do aktivacije, tj. prisutnost signala opasnosti ili signala sigurnosti (Swiatczak i Cohen, 2015). U receptore za prepoznavanje obrazaca spadaju i receptori slični Tollu, koji su u sisavaca ključni za održavanje homeostaze epitela crijeva (Rakoff-Nahoum i sur. 2004).

Mikrobiom sisavaca je ključan i u sazrijevanju imunskog sustava domaćina tijekom kritičnog perioda u prvim godinama života (Zheng i sur. 2020). Dokazi za to potječu od eksperimenata s GF životinjama, u kojima je uočen nepotpuno razvijeni imunski sustav, koji se odlikuje smanjenim brojem plazma stanica i CD4⁺ stanica T u mukozi, nestrukturiranim limfnim čvorovima i slezenom te hipogamaglobulinemičnim serumom (Macpherson i Harris, 2004).

6.1. MIKROGLIJA

Neuralna plastičnost, nešto širi pojam od sinaptičke plastičnosti, uključuje procese poput apoptoze neurona, degradacije pojedinih izdanaka neurona i degradacije pojedinačnih sinapsa, što sve rezultira oslobađanjem staničnih ostataka. Zbog tog razloga, neuralna plastičnost mora biti strogo kooordinirana s imunskim procesima, kako normalni procesi modulacije mozga ne bi postali patološki. U tim procesima sudjeluju primarno glija stanice (mikroglia i astrociti) te stanice koroidnog pleksusa, moždanih ovojnica i krvožilnog sustava mozga (Yirmiya i Goshen, 2011).

Mikroglia stanice su glavne stanice urođene imunosti u SŽS, uključene u održavanje homeostaze u mozgu, fagocitozu patogena i staničnog otpada, te pokretanje imunskog odgovora (Sierra i sur. 2014). Mikroglia također igra ključnu ulogu u hipokampusnoj neurogenezi, pri čemu ostvaruje blizak kontakt sa stanicama svakog stadija neurogeneze, sudjeluje u fagocitozi apoptotičnih stanica, te modulira taj proces sekrecijom raznih faktora. S druge strane, aktivacija mikroglije, koja je jedna od značajki neuroinflamacije, može za posljedicu imati smanjenu hipokampusnu neurogenezu i posljedično poremećaje u pamćenju (Rodríguez-Iglesias i sur. 2019).

Mikrobiota sudjeluje u regulaciji funkcije i sazrijevanja mikroglije, pri čemu GF miševi imaju defektivnu mikrogliju, koja je nezrelog fenotipa i promijenjene morfologije. Budući da miševi kojima nedostaje FFAR2 receptor imaju slično promijenjenu mikrogliju kao i GF miševi, vrlo je vjerojatno da se učinak mikrobiote na te stanice ostvaruje preko metabolita SCFA (Erny i

sur. 2015). Nadalje, mikrobiota preko SCFA mijenja aktivnost mikroglije, čime može dovesti do supresije upale (Baizabal-Carvallo i Alonso-Juarez, 2020).

6.2. UČINAK DISBIOZE NA HIPOKAMPUSNU FUNKCIJU

Disbioza se definira kao promjena u sastavu i funkciji mikrobioma, do koje dolazi kao posljedica djelovanja niza faktora u okolišu ili unutar domaćina, pri čemu novonastala zajednica perzistira kao novo stabilno stanje. No, s obzirom na veliku raznolikost mikrobioma, te posljedičnu nemogućnost definiranja referentnog mikrobioma, nije dovoljno disbiozu definirati kao promijenjeno stanje (jer se ne može definirati s obzirom na što), pa uža definicija disbioze glasi da je to zajednica mikroorganizama koja je povezana s nastankom ili razvojem bolesti. Česti uzroci disbioze su intestinalna infekcija, prehrana i ksenobiotici. Iako imunosni sustav sudjeluje u regulaciji kompozicije mikrobioma i sprječava nastanak disbioze, jednom uspostavljena disbioza djelovanjem na imunosni sustav stabilizira i održava to nastalo promijenjeno stanje (Levy i sur. 2017).

Kao i stres, i disbioza narušava integritet intestinalne barijere, što omogućava bakterijskim produktima pristup krvožilnom sustavu, a povećava i permeabilnost krvno-moždane barijere (Mou i sur. 2022). Prisutnost bakterijskih produkata u organizmu dovodi do aktivacije upalnog odgovora i proizvodnje proupalnih citokina, te nastanka sistemske upale, a ti su procesi povezani s razvojem neuroinflamacije (Baizabal-Carvallo i Alonso-Juarez, 2020). Neuroinflamacija je povezana s mnogim neurodegenerativnim bolestima poput Parkinsonove i Alzheimerove bolesti, koje utječu na učenje i pamćenje (Subhramanyam i sur. 2019).

Eksperimentalno, disbioza se oponaša administracijom lipopolisaharida koji stimulira imunosni sustav ili se inducira visokofruktoznom prehranom koja, osim što uzrokuje disbiozu i sistemsku upalu, dovodi i do poremećaja epitelne funkcije (Kuijer i Steenbergen, 2023). Takva prehrana dovodi do pogoršanja prostornog pamćenja, uz zabilježenu inhibiciju hipokampusne neurogeneze, indukciju neuroinflamacije i promjenu astrocita u hipokampusu (Fierros-Campuzano i sur. 2022). Li i sur. (2019) pokazali su da prehrana obogaćena fruktozom dovodi do hipokampalne neuroinflamacije, aktivacije i glioze mikroglije i astrocita, te da uzrokuje smanjenu neurogenezu u hipokampusnom GD-u. Hipokampusna neuroinflamacija i gliosa inhibirane su administracijom antibiotika što ukazuje na kauzativnu ulogu disbioze u tim procesima (Li i sur. 2019).

Probiotici općenito djeluju na imunski sustav tako da smanjuju aktivaciju NF- κ B puta i proizvodnju proupalnih citokina čime suprimiraju upalni odgovor. Slično, i prebiotici mogu smanjiti upalne odgovore u domaćinu, bilo direktno ili indirektno (Yousefi i sur. 2019). Jedno je istraživanje pokazalo kako administracija prebiotika smanjuje razine proupalnih citokina, te dovodi do poboljšanja u poremećaju u učenju i pamćenju uzrokovano skopolaminom. To je poboljšanje bilo ovisno o sastavu mikrobiote, jer su isti efekti postignuti transplantacijom mikrobiote u druge miševе (Su i sur. 2018). Sličan efekt poboljšanja prostornog pamćenja, te sniženja razine proupalnih citokina postignut je i primjenom sinbiotika (Romo-Araiza i sur. 2018).

7. METABOLITI

Zadnji način na koji mikrobiom ostvaruje svoj utjecaj na hipokampus je putem vlastitih metabolita, tj. molekula koje nastaju metabolizmom mikrobiote. Od tih raznovrsnih molekula, posebno su značajne dvije skupine, kratkolančane masne kiseline i neurotransmiteri (Kuijjer i Steenbergen, 2023).

7.1. SCFA

Kratkolančane masne kiseline (eng. *short-chain fatty acids*, SCFA), su kratke monokarboksilne kiseline koje sadrže do 6 ugljikovih atoma, u koje spadaju acetat, propionat i butirat. U organizmu većinski nastaju fermentacijom vlakana i rezistentnog škroba iz hrane djelovanjem specifičnih bakterijskih vrsta u slijepom i debelom crijevu, iako u slučaju nedostatka vlakana u prehrani mogu nastati i fermentacijom proteina ili čak masti (Koh i sur. 2016). SCFA se iz lumena crijeva apsorbiraju u kolonocite monokarboksilatnim transporterima ovisnim o H⁺ ili Na⁺, te se dalje portalnim krvotokom prenose do jetre nakon koje dospijevaju u sistemski krvotok. Većina se butirata iskoristi u kolonocitima kojima je on glavni izvor energije, dok se propionat metabolizira u jetri, pa je acetat u sistemskoj cirkulaciji prisutan u najvećoj koncentraciji. Osobito važno otkriće koje je potaknulo dublja istraživanja SCFA kao bitnih metabolita, bio je otkriće receptora za te molekule, koji su eksprimirani na mnogim stanicama u organizmu, uključujući i enteroendokrine stanice i imunostne stanice. Ti su receptori dobili naziv FFAR2 i FFAR3 (eng. *free fatty acid receptor 2 and 3*) (Koh i sur. 2016).

SCFA ostvaruju svoje djelovanje na hipokampus direktno i indirektno. Indirektno djeluju vežući se na receptore na enteroendokrinim stanicama, pri čemu stimuliraju sekreciju GLP-1 i PYY, hormona koji preko vagusa djeluju na hipokampus (Kuijer i Steenbergen, 2023). Međutim, SCFA u sistemske cirkulaciji prolaze i kroz krvno-moždano barijeru (eng. *blood-brain barrier*, BBB) i mogu se detektirati u cerebrospinalnoj tekućini, te tako ostvaruju direktan utjecaj vežući se na receptore na mikroglijiji i neuronima (Silva i sur. 2020). SCFA vjerojatno sudjeluju i u održavanju krvno-moždane barijere, pri čemu GF miševi pokazuju smanjenu ekspresiju proteina čvrstih spojeva, i s tim povezanu povećanu permeabilnost krvno-moždane barijere (Braniste i sur. 2014).

Dva su bitna učinka koja SCFA ostvaruju u hipokampusu: modulacija histonske deacetilaze i povećanje ekspresije BDNF-a.

7.1.1. UTJECAJ NA HISTONSKU ACETILACIJU

Acetilacija, tj. deacetilacija histona jedna je od epigenetičkih modifikacija kojima se reverzibilno mijenja struktura kromatina, a time i dostupnost gena transkripcijskoj mašineriji. Taj reverzibilni proces kataliziraju dva recipročna enzima, histonska acetiltransferaza (eng. *histone acetyltransferase*, HAT) i histonska deacetilaza (eng. *histone deacetylase*, HDAC), koji dodaju, odnosno miču acetilnu skupinu s ϵ -skupine lizina unutar N-terminalnih repova histona. Budući da se acetilacijom smanjuje afinitet histona prema molekuli DNA, time nastaje kromatinska struktura koja podupire transkripciju, te se povećava genska ekspresija (Johnstone, 2002).

Butirat, i nešto manje propionat, djeluju kao inhibitori histonske deacetilaze (Johnstone, 2002). Osim što je to mehanizam kojim butirat sprječava razvoj kolorektalnog tumora (Koh i sur. 2016), ta inhibicijska aktivnost značajna je i u utjecaju na hipokampus. Naime, acetilacija histona bitna je modifikacija koja prati formiranje pamćenja, i sukladno, većina poremećaja u pamćenju do kojih dolazi u bolestima poput depresije, Alzheimerove bolesti i slično, praćena su smanjenjem acetilacije histona. Prema tome, korištenje inhibitora HDAC štiti od hipoacetilacije histona, i time omogućuje povratak normalnog pamćenja u miševima (Gräff i Tsai, 2013). Čak i poremećaji u pamćenju uzrokovani starenjem pokazuju sličan trend hipoacetilacije histona (Stilling i Fischer, 2011).

Natrijev butirat, kao HDAC inhibitor klase 1, povećavajući acetilaciju histona u hipokampusu, potiče konsolidaciju i rekonsolidaciju prostornog dugoročnog pamćenja (Villain i sur. 2016).

7.1.2. BDNF

Kao što je detaljnije objašnjeno u prijašnjem odlomku, BDNF je neurotrofni čimbenik koji igra ključnu ulogu u formaciji dugoročnih pamćenja u hipokampusu, te je jedan od čimbenika koji su osjetljivi na utjecaj crijevne mikrobiote. Tretiranje miševa antibioticima uzrokuje smanjenu ekspresiju BDNF-a u hipokampusu (Desbonnet i sur. 2015), dok administracija probiotika povećava istu (Liu i sur. 2015). U miševa s vaskularnom demencijom, tretman probiotikom *Clostridium butyricum* povećalo je razinu butirata u mozgu, kao i ekspresiju BDNF u hipokampusu (Liu i sur. 2015).

7.2. NEUROTRANSMITERI

7.2.1. TRIPTOFAN I SEROTONIN

Triptofan je u sisavaca esencijalna aminokiselina koja se stoga mora pribaviti iz prehrane. U probavnom se sustavu digestijom proteina oslobađa slobodna aminokiselina, koja apsorpcijom dopijeva u krvotok, gdje je većinski vezana za albumin, a manjim je dijelom prisutna u slobodnom obliku (O'Mahony i sur. 2015). Osim što se koristi za sintezu proteina, služi i kao prekursor u biosintezi neurotransmitera serotonina (5-hidroksitriptamin, 5-HT), te epifiznog hormona melatonina. Ipak, glavni put metabolizma te aminokiseline je kinureninski, kojim se u jetri oksidira više od 90% ukupnog triptofana. Kinurenin dalje ima dvije moguće sudbine te se pretvara ili u kinureninsku kiselinu ili u kinolinsku kiselinu. Od posebnog je značaja omjer ta dva metabolita u organizmu, pri čemu kinureninska kiselina, neuroprotektivni NMDAR antagonist, djeluje protektivno protiv neurotoksične kinolinske kiseline, NMDAR agonista (Gao i sur. 2020).

Mikrobiom sudjeluje u metabolizmu triptofana na nekoliko načina. Prvo, jedan dio triptofana koji se ne apsorbira u tankom crijevu dopijeva do debelog crijeva gdje je degradiran od strane mikrobioma u triptamin, indol i njegove derivate. Drugo, mikrobiom djeluje i na put sinteze serotonina, primarno utječući na enterokromafine stanice crijeva koje su mjesto sinteze 90% ukupnog serotonina u tijelu. Također, pojedine bakterijske vrste mogu koristiti triptofan za proizvodnju serotonina u lumenu crijeva. Treće, mikrobiom modulira kinureninski put, najvjerojatnije preko utjecaja na imunski sustav, budući da su enzimi toga puta osjetljivi na upalne medijatore (Gao i sur. 2020).

Poznato je da serotonin igra ulogu u nastanku pamćenja, te da njegova povišena koncentracija ima pozitivne učinke na kognitivne funkcije (Haider i sur. 2007). Nadalje, oralna administracija triptofana dovodi do poboljšanja u pamćenju, na način koji je povezan s povišenjem koncentracije 5-HT u hipokampusu (Haider i sur. 2007), ali i neovisan o njemu (Yousefzadeh i sur. 2020). Također je poznato kako tretiranje miševa s probiotikom *Bifidobacterium infantis* kroz 2 tjedna povećava razinu triptofana i kinurenina u plazmi (Desbonnet i sur. 2008), što predstavlja mogući mehanizam utjecaja probiotika na poboljšanje pamćenja. S druge strane, deplecija mikrobioma kroničnom administracijom antibiotika rezultira smanjenim razinama 5-HT u hipokampusu, te poremećajem u učenju povezanom s hipokampusom (Hoban i sur. 2016)

7.2.2. TIROZIN I KATEKOLAMINI

Tirozin je aromatska aminokiselina koja služi kao prekursor skupini molekula zvanih katekolamini, u koju spadaju dopamin, norepinefrin i epinefrin. Prvi korak sinteze katekolamina uključuje hidroksilaciju tirozina kojom nastaje DOPA, nakon čega slijedi korak dekarboksilacije, te nastaje dopamin. U dopaminergičnim neuronima to je zadnji korak, no u noradrenergičnim neuronima, slijedi korak hidroksilacije dopamina, čime nastaje norepinefrin. Norepinefrin se dalje može pretvoriti u epinefrin, uz prisutnost enzima feniletanolamin-N-metiltransferaza (Fernstrom i Fernstrom, 2007).

Katekolamini su ključni u stvaranju dugoročnih pamćenja u hipokampusu. Poznato je da je dopaminergično signaliziranje u hipokampusu bitno za uspješnu konsolidaciju dugoročnog pamćenja (Rossato i sur. 2009), a postoje i dokazi da su D1 i D5 receptori bitni u kontroli plastičnosti hipokampusu (Yang i Dani, 2014), no to je još uvijek kontroverzno. Nadalje, norepinefrin je bitan modulator sinaptičke plastičnosti za koji se pokazalo da je bitan u konsolidaciji emocionalno nabijenih sjećanja (Tully i Bolshakov, 2010).

Iako nekoliko vrsta bakterija može proizvoditi dopamin ili noradrenalin (Strandwitz, 2018), te je demonstrirano kako u lumenu crijeva GF miševa postoji smanjena količina slobodnih katekolamina (Asano i sur. 2012), tako sintetizirani katekolamini tipično ne prolaze kroz krvno-moždano barijeru (Oldendorf, 1971), te stoga ne ostvaruju utjecaj na hipokampus. Ipak, Hoban i sur. (2016) pokazali su kako deplecija ili disbioza uzrokovana administracijom antibiotika u miševa dovodi do promjene u razinama L-DOPA, prekursora dopamina, kao i njegovog metabolita, HVA, u hipokampusu. U tim je životinjama zabilježen i poremećaj u prostornom pamćenju (Hoban i sur. 2016).

7.2.3. GLUTAMIN, GLUTAMAT I GABA

Glutamin je neesencijalna aminokiselina koja se može sintetizirati u tijelu sisavaca. Iako sama nije neurotransmiter, prekursor je glavnom ekscitacijskom neurotransmiteru mozga, glutamatu. Više transporterskih sustava u krvno-moždanoj barijeri omogućava prijenos glutamina, koji je najčešća aminokiselina u cerebrospinalnoj tekućini, s koncentracijom koja približno odgovara njegovoj koncentraciji u plazmi (Xiang i sur. 2003). S druge strane, koncentracija glutamata u cerebrospinalnoj tekućini je precizno regulirana, te se on većinski sintetizira u mozgu iz glutamina (Smith, 2000).

Glutamat je glavni neurotransmiter i u hipokampusu, a temelj je i sinaptičke plastičnosti koja ovisi o NMDA receptoru, pa igra bitnu ulogu u učenju i pamćenju (Kandel i sur. 2021). U istraživanjima se često, umjesto koncentracije glutamata, navodi Glx kao kombinacija koncentracija glutamata i glutamina, pri čemu je veća razina Glx u hipokampusu povezana s boljim pamćenjem (Nikolova i sur. 2017). Niddam i sur. (2011) pokazali su kako je disbioza u pacijentima koji boluju od sindroma iritabilnog crijeva, povezana sa smanjenjem vrijednosti Glx u hipokampusu, te da je to obrnuto proporcionalno indikatorima emocionalnog stresa (Niddam i sur. 2011).

GABA (eng. *γ-aminobutyric acid*) je glavni inhibicijski neurotransmiter u mozgu sisavaca, a sintetizira se u mozgu iz glutamata. Taj neurotransmiter neophodan je za učenje ovisno o hipokampusu, a sudjeluje i u kontroli adultne hipokampusne neurogeneze (Sibbe i Kulik, 2017). Postoje istraživanja u kojima je administracija probiotika dovela smanjenja ekspresije podjedinice receptora za GABA, čija je inaktivacija povezana s poboljšanim pamćenjem (Bravo i sur., 2011).

8. ZAKLJUČAK

Crijevna mikrobiota, zajednica mikroorganizama koja nastanjuje probavni sustav, ostvaruje svoj utjecaj na učenje i pamćenje povezano s hipokampusom preko četiri različite komponente osi mikrobiom-crijevo-mozak. Prvi način na koji ostvaruje svoje djelovanje je preko živca vagusa, kranijalnog živca koji prenosi velik dio informacija od abdominalnih organa prema mozgu. Nadalje, mikrobiota utječe na hipokampus modulacijom osi hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda, endokrinog sustava uključenog u stresni odgovor, kao i modulacijom imunskog sustava. Naposljetku, značajni efekti ostvaruju se i izlučenim metabolitima, od kojih su posebno značajne kratkolančane masne kiseline.

Opsežna istraživanja posljednjih desetljeća značajno su proširila naša saznanja o osi mikrobiom-crijevo-mozak, te o učinku koji mikrobiom ima na kognitivne funkcije. No, kako se naše znanje proširuje, tako postaje sve jasnija potreba za daljnjim istraživanjima. Činjenica da su značajni pozitivni efekti na učenje i pamćenje dobiveni primjenama probiotika, prebiotika i sinbiotika, intervencija koje su dostupne većini ljudi, osobito je uzbuđljiva. Mikrobiom uistinu pokazuje izniman potencijal kao terapijsko, ali i dijagnostičko sredstvo. No, razvoj terapija za poremećaje u pamćenju, koji prate brojne neurološke bolesti, zahtijeva otkrivanje točnih mehanizama djelovanja, kako bi se takve intervencije mogle optimizirati i široko primjenjivati. Većina istraživanja spomenuta u ovom završnom radu provedena su na miševima i štakorima, što naglašava potrebu za provođenjem dodatnih istraživanja s ljudima, kako bi se saznanja dobivena na modelnim životinjama mogla primijeniti i na ljudima.

9. LITERATURA:

- Alkadhi, K. A. (2021). NMDA receptor-independent LTP in mammalian nervous system. *Progress in Neurobiology*, 200. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101986>
- Amaral, D. G., & Witter, M. P. (1989). *The Three-Dimensional Organization of the Hippocampal Formation: A Review of Anatomical Data*. 31(3), 571–591.
- Asano, Y., Hiramoto, T., Nishino, R., Aiba, Y., Kimura, T., Yoshihara, K., Koga, Y., & Sudo, N. (2012). Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303, G1288–G1295. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00341.2012>
- Baizabal-Carvalho, J. F., & Alonso-Juarez, M. (2020). The Link between Gut Dysbiosis and Neuroinflammation in Parkinson's Disease. *Neuroscience*, 432, 160–173. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.02.030>
- Bercik, P., Collins, S. M., & Verdu, E. F. (2012). Microbes and the gut-brain axis. *Neurogastroenterology and Motility*, 24(5), 405–413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2012.01906.x>
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8(103). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Bisaz, R., Travaglia, A., & Alberini, C. M. (2014). The neurobiological bases of memory formation: From physiological conditions to psychopathology. *Psychopathology*, 47, 347–356. <https://doi.org/10.1159/000363702>
- Bonaz, B., Bazin, T., & Pellissier, S. (2018). The vagus nerve at the interface of the microbiota-gut-brain axis. *Frontiers in Neuroscience*, 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00049>
- Braniste, V., Al-Asmakh, M., Kowal, C., Anuar, F., Abbaspour, A., Tóth, M., Korecka, A., Bakocevic, N., Ng, L. G., Kundu, P., Gulyás, B., Halldin, C., Hultenby, K., Nilsson, H., Hebert, H., Volpe, B. T., Diamond, B., & Pettersson, S. (2014). *The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice*. 6(263). www.ScienceTranslationalMedicine.org
- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Bienenstock, J., & Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates

- emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(38), 16050–16055. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108>
- Brosschot, J. F., Verkuil, B., & Thayer, J. F. (2018). Generalized unsafety theory of stress: Unsafe environments and conditions, and the default stress response. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(464). <https://doi.org/10.3390/ijerph15030464>
- Chu, H., & Mazmanian, S. K. (2013). Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis. U *Nature Immunology* (Sv. 14, Izdanje 7, str. 668–675). <https://doi.org/10.1038/ni.2635>
- Clerc, N., & Furness, J. B. (2004). Intrinsic primary afferent neurones of the digestive tract. *Neurogastroenterology and Motility*, 16.
- Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2012). Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. U *Nature Reviews Neuroscience* (Sv. 13, Izdanje 10, str. 701–712). <https://doi.org/10.1038/nrn3346>
- Cunha, C., Brambilla, R., & Thomas, K. L. (2010). A simple role for BDNF in learning and memory? *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 3. <https://doi.org/10.3389/neuro.02.001.2010>
- Czerniawski, J., & Guzowski, J. F. (2014). Acute neuroinflammation impairs context discrimination memory and disrupts pattern separation processes in hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 34(37), 12470–12480. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0542-14.2014>
- de Weerth, C. (2017). Do bacteria shape our development? Crosstalk between intestinal microbiota and HPA axis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 83, 458–471. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.09.016>
- Desbonnet, L., Clarke, G., Traplin, A., O’Sullivan, O., Crispie, F., Moloney, R. D., Cotter, P. D., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2015). Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: Implications for brain and behaviour. *Brain, Behavior, and Immunity*, 48, 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.04.004>
- Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Bienenstock, J., & Dinan, T. G. (2008). The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 43(2), 164–174. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2008.03.009>

- Domínguez-Rivas, E., Ávila-Muñoz, E., Schwarzacher, S. W., & Zepeda, A. (2021). Adult hippocampal neurogenesis in the context of lipopolysaccharide-induced neuroinflammation: A molecular, cellular and behavioral review. *Brain, Behavior, and Immunity*, *97*, 286–302. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.06.014>
- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S. R., Nelson, K. E., & Relman, D. A. (2005). Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*, *308*. <http://science.sciencemag.org/>
- Erny, D., De Angelis, A. L. H., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., Keren-Shaul, H., Mhalkoiv, T., Jakobshagen, K., Buch, T., Schwierzeck, V., Utermöhlen, O., Chun, E., Garrett, W. S., McCoy, K. D., Diefenbach, A., Staeheli, P., Stecher, B., Amit, I., & Prinz, M. (2015). Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature Neuroscience*, *18*(7), 965–977. <https://doi.org/10.1038/nn.4030>
- Fernstrom, J. D., & Fernstrom, M. H. (2007). Tyrosine, Phenylalanine, and Catecholamine Synthesis and Function in the Brain. *The Journal of Nutrition*, *137*.
- Fierros-Campuzano, J., Ballesteros-Zebadúa, P., Manjarrez-Marmolejo, J., Aguilera, P., Méndez-Díaz, M., Prospero-García, O., & Franco-Pérez, J. (2022). Irreversible hippocampal changes induced by high fructose diet in rats. *Nutritional Neuroscience*, *25*(6), 1325–1337. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1853418>
- Forsythe, P., Bienenstock, J., & Kunze, W. A. (2014). Vagal pathways for microbiome-brain-gut axis communication. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *817*, 115–133. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_5
- Frankiensztajn, L. M., Elliott, E., & Koren, O. (2020). The microbiota and the hypothalamus-pituitary-adrenocortical (HPA) axis, implications for anxiety and stress disorders. *Current Opinion in Neurobiology*, *62*, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2019.12.003>
- Furness, J. B. (2006). *The Enteric Nervous System*. Blackwell Publishing.
- Gao, K., Mu, C. L., Farzi, A., & Zhu, W. Y. (2020). Tryptophan Metabolism: A Link between the Gut Microbiota and Brain. *Advances in Nutrition*, *11*(3), 709–723. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz127>
- Gareau, M. G., Wine, E., Rodrigues, D. M., Cho, J. H., Whary, M. T., Philpott, D. J., MacQueen, G., & Sherman, P. M. (2011). Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, *60*(3), 307–317. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.202515>

- Gershon, M. D., & Margolis, K. G. (2021). The gut, its microbiome, and the brain: Connections and communications. U *Journal of Clinical Investigation* (Sv. 131, Izdanje 18). American Society for Clinical Investigation. <https://doi.org/10.1172/JCI143768>
- Gräff, J., & Tsai, L. H. (2013). The potential of HDAC inhibitors as cognitive enhancers. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *53*, 311–330. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011112-140216>
- Gregor, R., Probst, M., Eyal, S., Aksenov, A., Sasson, G., Horovitz, I., Dorrestein, P. C., Meijler, M. M., & Mizrahi, I. (2022). Mammalian gut metabolomes mirror microbiome composition and host phylogeny. *ISME Journal*, *16*(5), 1262–1274. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01152-0>
- Haider, S., Haleem, D., Khaliq, S., & Haleem, D. J. (2007). Enhanced serotonergic neurotransmission in the hippocampus following tryptophan administration improves learning acquisition and memory consolidation in rats. *Pharmacological Reports*, *59*, 53–57. <https://www.researchgate.net/publication/6430505>
- Hoban, A. E., Moloney, R. D., Golubeva, A. V., McVey Neufeld, K. A., O’Sullivan, O., Patterson, E., Stanton, C., Dinan, T. G., Clarke, G., & Cryan, J. F. (2016). Behavioural and neurochemical consequences of chronic gut microbiota depletion during adulthood in the rat. *Neuroscience*, *339*, 463–477. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.10.003>
- Jang, H. M., Jang, S. E., Han, M. J., & Kim, D. H. (2017). Anxiolytic-like effect of *Bifidobacterium adolescentis* IM38 in mice with or without immobilisation stress. *Beneficial Microbes*, *9*(1), 123–132. <https://doi.org/10.3920/BM2016.0226>
- Johnstone, R. W. (2002). Histone-deacetylase inhibitors: Novel drugs for the treatment of cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, *1*(4), 287–299. <https://doi.org/10.1038/nrd772>
- Kandel, E. R. ., Koester, John., Mack, Sarah., & Siegelbaum, Steven. (2021). *Principles of neural science*. McGraw Hill.
- Kelly, J. R., Kennedy, P. J., Cryan, J. F., Dinan, T. G., Clarke, G., & Hyland, N. P. (2015). Breaking down the barriers: The gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00392>
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell*, *165*(6), 1332–1345. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041>

- Kuijjer, E. J., & Steenbergen, L. (2023). The microbiota-gut-brain axis in hippocampus-dependent learning and memory: current state and future challenges. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *152*. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105296>
- Latorre, R., Sternini, C., De Giorgio, R., & Greenwood-Van Meerveld, B. (2016). Enteroendocrine cells: A review of their role in brain-gut communication. *Neurogastroenterology and Motility*, *28*(5), 620–630. <https://doi.org/10.1111/nmo.12754>
- Lederberg, J., & Mccray, A. T. (2001). COMMENTARY 'Ome Sweet 'Omics-A Genealogical Treasury of Words. *The Scientist*, *15*(7). www.-ics.com
- Levy, M., Kolodziejczyk, A. A., Thaïss, C. A., & Elinav, E. (2017). Dysbiosis and the immune system. *Nature Reviews Immunology*, *17*(4), 219–232. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.7>
- Lewandowska-Pietruszka, Z., Figlerowicz, M., & Mazur-Melewska, K. (2022). The History of the Intestinal Microbiota and the Gut-Brain Axis. *Pathogens*, *11*(12). <https://doi.org/10.3390/pathogens11121540>
- Li, J. M., Yu, R., Zhang, L. P., Wen, S. Y., Wang, S. J., Zhang, X. Y., Xu, Q., & Kong, L. D. (2019). Dietary fructose-induced gut dysbiosis promotes mouse hippocampal neuroinflammation: A benefit of short-chain fatty acids. *Microbiome*, *7*(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0713-7>
- Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., Duan, Y., & Jin, F. (2015). Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience*, *310*, 561–577. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.033>
- Liu, J., Sun, J., Wang, F., Yu, X., Ling, Z., Li, H., Zhang, H., Jin, J., Chen, W., Pang, M., Yu, J., He, Y., & Xu, J. (2015). Neuroprotective Effects of *Clostridium butyricum* against Vascular Dementia in Mice via Metabolic Butyrate. *BioMed Research International*, *2015*. <https://doi.org/10.1155/2015/412946>
- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, *489*(7415), 220–230. <https://doi.org/10.1038/nature11550>
- Macpherson, A. J., Geuking, M. B., & McCoy, K. D. (2005). Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. *Immunology*, *115*(2), 153–162. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2005.02159.x>
- Macpherson, A. J., & Harris, N. L. (2004). Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nature Reviews Immunology*, *4*.

- Marcondes Ávila, P. R., Fiorot, M., Michels, M., Dominguni, D., Abatti, M., Vieira, A., de Moura, A. B., Behenck, J. P., Borba, L. A., Botelho, M. E. M., Réus, G. Z., Dal-Pizzol, F., & Ritter, C. (2020). Effects of microbiota transplantation and the role of the vagus nerve in gut–brain axis in animals subjected to chronic mild stress. *Journal of Affective Disorders*, *277*, 410–416. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.08.013>
- Margolis, K. G., Cryan, J. F., & Mayer, E. A. (2021). The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*, *160*(5), 1486–1501. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.10.066>
- Mayer, E. A. (2011). Gut feelings: The emerging biology of gut-"brain communication. *Nature Reviews Neuroscience*, *12*(8), 453–466. <https://doi.org/10.1038/nrn3071>
- Miller, I. (2018). The gut–brain axis: historical reflections. *Microbial Ecology in Health and Disease*, *29*(2), 1542921. <https://doi.org/10.1080/16512235.2018.1542921>
- Mou, Y., Du, Y., Zhou, L., Yue, J., Hu, X., Liu, Y., Chen, S., Lin, X., Zhang, G., Xiao, H., & Dong, B. (2022). Gut Microbiota Interact With the Brain Through Systemic Chronic Inflammation: Implications on Neuroinflammation, Neurodegeneration, and Aging. *Frontiers in Immunology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.796288>
- Niddam, D. M., Tsai, S. Y., Lu, C. L., Ko, C. W., & Hsieh, J. C. (2011). Reduced hippocampal glutamate-glutamine levels in irritable bowel syndrome: Preliminary findings using magnetic resonance spectroscopy. *American Journal of Gastroenterology*, *106*(8), 1503–1511. <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.120>
- Nikolova, S., Stark, S. M., & Stark, C. E. L. (2017). 3T hippocampal glutamate-glutamine complex reflects verbal memory decline in aging. *Neurobiology of Aging*, *54*, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.01.026>
- Oldendorf, W. H. (1971). Brain uptake of radiolabeled amino acids, amines, and hexoses after arterial injection. *American Journal of Psychology*, *224*(6).
- Olsen, L. K., Solis, E., McIntire, L. K., & Hatcher-Solis, C. N. (2023). Vagus nerve stimulation: mechanisms and factors involved in memory enhancement. *Frontiers in Human Neuroscience*, *17*. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2023.1152064>
- O'Mahony, S. M., Clarke, G., Borre, Y. E., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2015). Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, *277*, 32–48. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.07.027>
- Perez-Burgos, A., Wang, B., Mao, Y. K., Mistry, B., Neufeld, K. A. M. V., Bienenstock, J., & Kunze, W. (2013). Psychoactive bacteria *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) elicits rapid

- frequency facilitation in vagal afferents. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 304(2). <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00128.2012>
- Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., & Medzhitov, R. (2004). Recognition of Commensal Microflora by Toll-Like Receptors Is Required for Intestinal Homeostasis. *Cell*, 118, 229–241. <http://www.cell.com/cgi/content/full/118/2/229/DC1>
- Rei, D., Saha, S., Haddad, M., Rubio, A. H., Perlaza, B. L., Berard, M., Ungeheuer, M.-N., Sokol, H., & Lledo, P.-M. (2022). Age-associated gut microbiota impairs hippocampus-dependent memory in a vagus-dependent manner. *JCI Insight*, 7(15). <https://doi.org/10.1172/jci>
- Reul, J. M. H. M., & De Kloet, E. R. (1985). Two Receptor Systems for Corticosterone in Rat Brain: Microdistribution and Differential Occupation. *Endocrinology*, 117(6).
- Rodríguez-Iglesias, N., Sierra, A., & Valero, J. (2019). Rewiring of memory circuits: Connecting adult newborn neurons with the help of microglia. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00024>
- Romo-Araiza, A., Gutiérrez-Salmeán, G., Galván, E. J., Hernández-Frausto, M., Herrera-López, G., Romo-Parra, H., García-Contreras, V., Fernández-Presas, A. M., Jasso-Chávez, R., Borlongan, C. V., & Ibarra, A. (2018). Probiotics and Prebiotics as a Therapeutic Strategy to Improve Memory in a Model of Middle-Aged Rats. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00416>
- Rossato, J. I., Bevilaqua, L. R. M., Izquierdo, I., Medina, J. H., & Cammarota, M. (2009). Dopamine controls persistence of long-term memory storage. *Science*, 325(5943), 1017–1020. <https://doi.org/10.1126/science.1172545>
- Sibbe, M., & Kulik, A. (2017). GABAergic Regulation of Adult Hippocampal Neurogenesis. *Molecular Neurobiology*, 54(7), 5497–5510. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-0072-3>
- Sierra, A., Beccari, S., Diaz-Aparicio, I., Encinas, J. M., Comeau, S., & Tremblay, M. È. (2014). Surveillance, phagocytosis, and inflammation: How never-resting microglia influence adult hippocampal neurogenesis. *Neural Plasticity*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/610343>
- Silva, Y. P., Bernardi, A., & Frozza, R. L. (2020). The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00025>
- Siopi, E., Galerne, M., Rivagorda, M., Saha, S., Moigneu, C., Moriceau, S., Bigot, M., Oury, F., & Lledo, P. M. (2023). Gut microbiota changes require vagus nerve integrity to

- promote depressive-like behaviors in mice. *Molecular Psychiatry*, 28(7), 3002–3012. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02071-6>
- Smith, Q. R. (2000). Glutamate and Glutamine in the Brain Transport of Glutamate and Other Amino Acids at the Blood-Brain Barrier 1. *J. Nutr*, 130, 1016–1022.
- Spencer, R. L., & Deak, T. (2017). A users guide to HPA axis research. *Physiology and Behavior*, 178, 43–65. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.11.014>
- Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.06.005>
- Stilling, R. M., & Fischer, A. (2011). The role of histone acetylation in age-associated memory impairment and Alzheimer’s disease. *Neurobiology of Learning and Memory*, 96(1), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2011.04.002>
- Strandwitz, P. (2018). Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Research*, 1693, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.03.015>
- Su, A., Yang, W., Zhao, L., Pei, F., Yuan, B., Zhong, L., Ma, G., & Hu, Q. (2018). Flammulina velutipes polysaccharides improve scopolamine-induced learning and memory impairment in mice by modulating gut microbiota composition. *Food and Function*, 9(3), 1424–1432. <https://doi.org/10.1039/c7fo01991b>
- Suarez, A. N., Hsu, T. M., Liu, C. M., Noble, E. E., Cortella, A. M., Nakamoto, E. M., Hahn, J. D., De Lartigue, G., & Kanoski, S. E. (2018). Gut vagal sensory signaling regulates hippocampus function through multi-order pathways. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04639-1>
- Subhramanyam, C. S., Wang, C., Hu, Q., & Dheen, S. T. (2019). Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 94, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2019.05.004>
- Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X. N., Kubo, C., & Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *Journal of Physiology*, 558(1), 263–275. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>
- Swiatczak, B., & Cohen, I. R. (2015). Gut feelings of safety: Tolerance to the microbiota mediated by innate immune receptors. *Microbiology and Immunology*, 59(10), 573–585. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12318>
- Tully, K., & Bolshakov, V. Y. (2010). *Emotional enhancement of memory: how norepinephrine enables synaptic plasticity*. 3(15). <http://www.molecularbrain.com/content/3/1/15>

- Van Strien, N. M., Cappaert, N. L. M., & Witter, M. P. (2009). The anatomy of memory: An interactive overview of the parahippocampal- hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(4), 272–282. <https://doi.org/10.1038/nrn2614>
- Vegiopoulos, A., & Herzig, S. (2007). Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *275*(1–2), 43–61. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2007.05.015>
- Villain, H., Florian, C., & Rouillet, P. (2016). HDAC inhibition promotes both initial consolidation and reconsolidation of spatial memory in mice. *Scientific Reports*, *6*. <https://doi.org/10.1038/srep27015>
- Welling, L. L. M., & Shackelford, T. K. (Ur.). (2019). *The Oxford Handbook of Evolutionary Psychology and Behavioral Endocrinology*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780190649739.001.0001>
- Xiang, J., Ennis, S. R., Abdelkarim, G. E., Fujisawa, M., Kawai, N., & Keep, R. F. (2003). Glutamine transport at the blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *Neurochemistry International*, *43*(4–5), 279–288. [https://doi.org/10.1016/S0197-0186\(03\)00013-5](https://doi.org/10.1016/S0197-0186(03)00013-5)
- Yang, K., & Dani, J. A. (2014). Dopamine d1 and d5 receptors modulate spike timing-dependent plasticity at medial perforant path to dentate granule cell synapses. *Journal of Neuroscience*, *34*(48), 15888–15897. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2400-14.2014>
- Yirmiya, R., & Goshen, I. (2011). Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain, Behavior, and Immunity*, *25*(2), 181–213. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.10.015>
- Yousefi, B., Eslami, M., Ghasemian, A., Kokhaei, P., Salek Farrokhi, A., & Darabi, N. (2019). Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *Journal of Cellular Physiology*, *234*(6), 8008–8018. <https://doi.org/10.1002/jcp.27559>
- Yousefzadeh, S. A., Jarah, M., & Riazi, G. H. (2020). Tryptophan Improves Memory Independent of Its Role as a Serotonin Precursor: Potential Involvement of Microtubule Proteins. *Journal of Molecular Neuroscience*, *70*(4), 559–567. <https://doi.org/10.1007/s12031-019-01457-y>
- Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*, *30*(6), 492–506. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>

10. ŽIVOTOPIS:

Rođena sam 9. rujna 1997. godine u Vinkovcima. Nakon završetka osnovnoškolskog obrazovanja u Osnovnoj školi Josipa Kozarca, 2012. godine sam upisala opći smjer Gimnazije Matije Antuna Reljkovića u Vinkovcima. Po završenoj srednjoj školi i uspješno položenju maturi, upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu. Odlučivši se za promjenu, otišla sam živjeti u Irsku. Po povratku, upisala sam smjer Molekularne biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu, na kojem sam trenutno treća godina. Ove sam godine na Zavodu za molekularnu biologiju pod mentorstvom prof. dr. sc. Ivane Ivančić Baće odradila Laboratorijsku stručnu praksu.