

# Utjecaj crijevnog mikrobioma na funkcioniranje mozga i ponašanje

---

**Adrović, Emanuela**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2019**

*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:217:662719>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-25**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

UTJECAJ CRIJEVNOG MIKROBIOMA NA FUNKCIONIRANJE MOZGA I PONAŠANJE  
THE INFLUENCE OF INTESTINAL MICROBIOME ON BRAIN FUNCTIONING AND  
BEHAVIOR

**SEMINARSKI RAD**

Emanuela Adrović

Preddiplomski studij biologije

(Undergraduate Study of Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Tomislav Ivanković

Zagreb, 2019.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1. Mikroflora crijeva .....	2
<b>2. OSOVINA MOZAK – CRIJEVO – MIKROBIOTA.....</b>	<b>4</b>
2.1. Povezanost mikroflora crijeva sa stresom i ponašanjem .....	5
2.2. Mogući putevi signalizacije .....	7
<b>3. NEUROPSIHIJATRIJSKI POREMEĆAJI.....</b>	<b>12</b>
3.1. Psihički poremećaji: anksioznost i depresija .....	12
3.2. Autizam.....	14
3.3. Alzheimerova bolest .....	15
3.4. Parkinsonova bolest .....	16
<b>4. NOVIJI PRISTUPI U LIJEČENJU PATOFIZIOLOŠKIH STANJA.....</b>	<b>18</b>
4.1. Probiotici.....	19
4.2. Prebiotici .....	20
4.3. Psihobiotici .....	23
4.4. Antibiotici .....	24
4.5. Prehrana .....	25
4.6. Dijagnostika .....	26
4.7. Transplantacija fekalne mikrobiote.....	27
<b>5. LITERATURA.....</b>	<b>28</b>

<b>6. SAŽETAK</b> .....	31
<b>7. SUMMARY</b> .....	32

## 1. UVOD

Mikrobiom odnosno mikroflora naziv je za zajednicu svih mikroorganizama koji žive na nama i u nama zajedno s njihovim ukupnim genetskim materijalom. Te zajednice razlikujemo prema organima u kojima se nalaze, primjerice: mikroflora kože, usta, crijeva i urogenitalna. Dok neki tvrde da je omjer mikroorganizama i ljudskih stanica u ljudskom tijelu 3:1, točan broj teško je odrediv, a procjene prilično variraju jer svaka osoba sadrži različite omjere i kolonije tih mikroba. Mikroflora uključuje mikrobe i prokariotske stanice, ali i eukariote poput gljiva i protozoa. Ne postoji jedinstveno mišljenje o vrsti odnosa između mikroba i domaćina. Dok ih neki shvaćaju komenzalima (od latinske sintagme *cum mensa* što znači jesti zajedno), drugi ih nazivaju mutualistima. Domaćin im pruža sve potrebne nutrijente, hranu i vodu, a bakterije i njihovi produkti imaju ulogu u probavi hrane, zaštiti, ali i u razvoju mozga i njegovih kasnijih funkcija (Geurts i sur., 2013; Chen i sur., 2013). Na sastav mikroflore utječu mnogi čimbenici: starost, geografija, hrana, lijekovi, antibiotici, stres, ali djelomično i genetika. Ovisno o njihovu sastavu, mikrobiota izravno utječe na ljudsko zdravlje, razvoj i odrastanje, metabolizam, probavu hrane, pohranu nutrijenata i energije te na imunološki sustav. Danas se upoznavanje mikrobiote najvećim dijelom svodi na istraživanja na životinjskim modelima, dok vrlo malo istraživanja uključuje ljudsku mikrobiotu. Sisavci kao organizmi nikada ni nisu postojali bez mikroba (osim u laboratorijskim uvjetima), a koevolucija mikroba i ljudskog tijela danas se shvaća i opisuje kao 'superorganizam'. Posljedično tome, u odsutnosti tih bakterija ljudski organizam ne bi mogao razviti postojeću razinu kognitivnih procesa (Montiel-Castro i sur. 2013). Razvoj tehnologije omogućio je i veliki napredak u spoznaji građe i funkcije crijevne barijere i važnosti njene propusnosti kao uzroku mnogih bolesti. U istraživanjima se najčešće koriste *germ-free* (GF) životinje koje su bez mikroorganizama, žive u sterilnim uvjetima i tijekom života nisu izložene ni dobrim ni lošim bakterijama. Njihov monitoring pridonosi zaključcima o glavnim ulogama mikrobiote. Nadalje, kompleksnije i skuplje metode svode se na pokušaje manipulacije same mikrobiote, a time i prikupljanje ideja za nove načine liječenja i pronalaska mogućih terapija za stresom inducirana stanja. Dublje razumijevanje mikrobiote, njene ekologije, metabolizma i signalnih putova u domaćinu dovodi do razvitka nove generacije lijekova koji će svojim utjecajem na mikrofloru crijeva djelovati istovremeno kao preventivna sredstva, ali i lijekovi za razne neuropsihijatrijske bolesti.

## 1.1. Mikroflora crijeva

Crijeva su najkoloniziraniji čovjekov organ s bakterijskim organizmima koji mogu težiti čak  $10^1 - 10^3$  stanica po gramu. U ljudskim crijevima nalazi se približno oko  $10^{13}$  do  $10^{14}$  mikroorganizama, što je deset puta više mikrobnih nego eukariotskih stanica koje sačinjavaju naše tijelo i sadrže 150 puta više gena nego ljudski genom (Quin i sur. 2010). Mikroflora crijeva u istoj osobi mijenja se od rođenja preko adolescencije pa do starosti što dodatno pridonosi težini procjene njihova broja. Mikroflora novorođenog djeteta manje je raznolika i podložnija promjenama, nego kod odraslog čovjeka. Majčino mlijeko tijekom prve godine života uvelike povisuje brojnost *Bifidobacterium* u crijevima dojenčadi (Stark i Lee 1982). Prelaskom na kašice, tijekom druge godine života, povećava se brojnost *Staphylococcus*, *Streptococcus* i *Clostridium* (Stark i Lee 1982). Kolonizacija crijeva i konstantna varijabilnost crijevnih mikroba završava s trećom godinom života, što je ujedno i prelazak djeteta na krutu prehranu (Weng i Walker 2013) gdje tada mikroflora poprima izgled mikroflore odrasle osobe, a s time dolazi i do uspostave imunološke homeostaze. Svi čimbenici koji utječu na razvoj djetetove mikrobiote do treće godine života jesu: način porođaja, izloženost antibioticima i način hranjenja. Donedavno se pretpostavljalo da kolonizacija cjelokupne mikroflore novorođenog djeteta počinje njegovim rođenjem i dojenjem, ali novija istraživanja ukazuju na to da se kolonizacija odvija i u placenti. Time se majčina prehrana dovodi u vrlo važnu poziciju za razvoj što zdravije djetetove mikrobiote. Opće je prihvaćeno da odrasli organizam sadrži 1000 vrsta različitih mikroba i 7000 različitih sojeva (Ley i sur. 2006). U tom okruženju pretežno dominiraju anaerobne bakterije iako se mogu naći i virusi, protozoa, archea i gljive. Premda se mikrobiom tijekom odrastanja mijenja, u odrasloj fazi najviše je definiran (čak 70–75%) dvjema bakterijskim filotipovima *Bacteroides* (*Bacteroides* i *Prevotella*) i *Firmicutes* (*Lactobacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* i *Ruminococcus*). Također su prisutni, ali u manjem broju: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* i *Verrucomicrobia* (Lankelma i sur. 2015; Quin i sur. 2010). Glavne su uloge mikroorganizama u crijevima: metabolizam ugljikohidrata, aminokiselina i lipida, zatim biosinteza esencijalnih vitamina, fermentacija neprobavljenih sastojaka hrane, trofička uloga u proliferaciji i diferencijaciji epitelnih stanica, zaštitna uloga od invazije patogena te u razvoju i regulaciji imunosti. Bakterije u crijevima luče razne supstance poput gama-aminomaslačne kiseline (engl. *Gamma-aminobutyric acid*, GABA), serotoninina, dušikova (II) oksida, acetilkolina, noradrenalina, dopamina, serotoninina. One mogu utjecati na crijevnu živčanu mrežu

jer djeluju poput neurotransmitera te omogućuju prijenos podražaja (Wang 2002). Tim je otkrićem skrenuta pozornost na druge važne uloge mikrobiote, a to je njihov utjecaj na mozak, odnosno na ponašanje, stres i kogniciju. Znanstvenici imaju velikih poteškoća u definiranju 'zdrave' mikrobiote zbog velike varijabilnosti mikroba u svakom pojedincu zasebno, zato je načelno dogovoreno da karakteristike zdrave mikrobiote uključuju stabilnu zajednicu i veliku raznolikost vrsta. Zato bilo kakve varijacije u kompoziciji mikrobiote nazivamo disbioza, odnosno neravnoteža crijevne mikroflore. Do disbioze može doći zbog nekih egzogenih čimbenika (terapije antibioticima, prekomjerne higijene, emocionalnog stresa, starenja, putovanja, poremećaja peristaltike, operacije, patogena, radijacije, kemoterapije i poremećaja imunološkog sustava) i/ili endogenih čimbenika (dostupnosti hranjivih tvari, vrste prehrane, pH-vrijednosti, redoks potencijala, bolesti, bakterijskog antagonizma, lizozima, mucina i defenzina). Ako dođe do bilo kakvog disbalansa, dolazi i do pojave raznih psiholoških stanja poput depresije, anksioznosti, poremećaja pozornosti s hiperaktivnošću (engl. *Attention Deficit Hiperactivity Disorder*, ADHD), autizma, ali i do pojave bolesti poput pretilosti, dijabetesa tipa 2, sindroma iritabilnog kolona (engl. *irritable bowel syndrome*, IBS), Crohnove bolesti i drugih. Povezanost i komunikacija između crijevnih mikroba i mozga je obostrana no znanstvenici još uvijek nisu definirali koja je uzročno-posljedična veza između ta dva organa, no ono što je danas istraženo jesu razni signalni putevi i sigurna povezanost preko osovine mozak – crijevo–mikrobiota (*brain – gut – microbiota axis*, BGM).

## 2. OSOVINA MOZAK – CRIJEVO – MIKROBIOTA

Odavno je već poznato da patogene bakterije mogu utjecati na ljudski živčani sustav i uzrokovati razna stanja i bolesti. Ta činjenica pokreće pitanje utjecaja dobrih bakterija u crijevima na živčani sustav. Mnoga istraživanja ukazala su na veliku povezanost i važnost mikroflore crijeva, odnosno crijevnog živčanog sustava (engl. *Enteric Endocrine System*, ENS) s funkcijom središnjeg živčanog sustava (engl. *Central Nervous System*, CNS). Komezali u crijevima nemaju tendenciju izazivanja bolesti iako su u izravnom kontaktu sa CNS-om. Neinvazivnim putem utječu na mozak odnosno ponašanje. Danas je dobro poznato da mozak može kontrolirati aktivnost mikroba u crijevima putem raznih signalnih puteva, ali nova istraživanja ukazuju i na postojanje obrnutih signala koji kreću iz crijeva u mozak. Jedni od prvih značajnijih eksperimenata koji su doveli do opažanja povezanosti mikroflore i ponašanja, uključujući memoriju i kognitivne sposobnosti, rađena su na *germ-free* (GF) miševima. GF miševi jesu oni kojima je onemogućena kolonizacija crijeva u prenatalnom (Adlerberth and Wold, 2009) i postnatalnom razdoblju te su odrasli u sterilnim uvjetima. Rezultati upućuju na to da u odsutnosti mikroflore dolazi do poremećaja u ponašanju uključujući i kognitivne deficite (Gareau i sur. 2011). Daljnja istraživanja uključuju manipuliranje mikroflore s raznim supstancama poput antibiotika. Antibiotici su poznati po svojoj moći uništavanja bakterija – i loših i dobrih. Oni značajno mogu dovesti do promjene sastava mikroflore crijeva te se zato i koriste za izazivanje gastrointestinalne disbioze. Davanje raznih antibiotika odraslim miševima dovelo je do redukcije broja dobrih bakterija u crijevima kao i nastajanje kognitivnih deficita. Ova istraživanja dovela su do otkrića osovine mozak – crijevo– mikrobiota (engl. *brain – gut – microbiota axis*, BGM) koji uključuje CNS, neuroendokrini, neuroimunološki sustav, simpatički i parasimpatički dio autonomnog živčanog sustava (engl. *Autonomic Nervous System*, ANS), ENS i najbitniji dio – crijevnu mikrofluoru. Ove sastavnice dijele zajedno i stvaraju kompleksnu mrežu aferentnih vlakana povezanih s CNS-om i eferentnim vlaknima povezanim s glatkim mišićima. Dakle, ova mreža omogućuje slanje poruka iz mozga koje utječu na motorni, senzorni i sekretorni sustav u gastrointestinalnom traktu, dok poruke iz crijeva također utječu na dio mozga koji odgovara na stres, najvjerojatnije na hipotalamus. Dvosmjerna komunikacija mozga i crijevne mikroflore vrlo je zanimljiva tema znanstvenicima diljem svijeta i danas se sve više pozornosti pridaje toj vrlo kompleksnoj, obostranoj mreži i povezanosti dvaju vrlo bitnih



ljudskih organa i njihovim načinima komunikacije kako bi se naposljetku pokušali pronaći novi načini liječenja mnogih psiholoških poremećaja preko manipulacije crijevne mikroflore.

### 2.1. Povezanost mikroflore crijeva sa stresom i ponašanjem

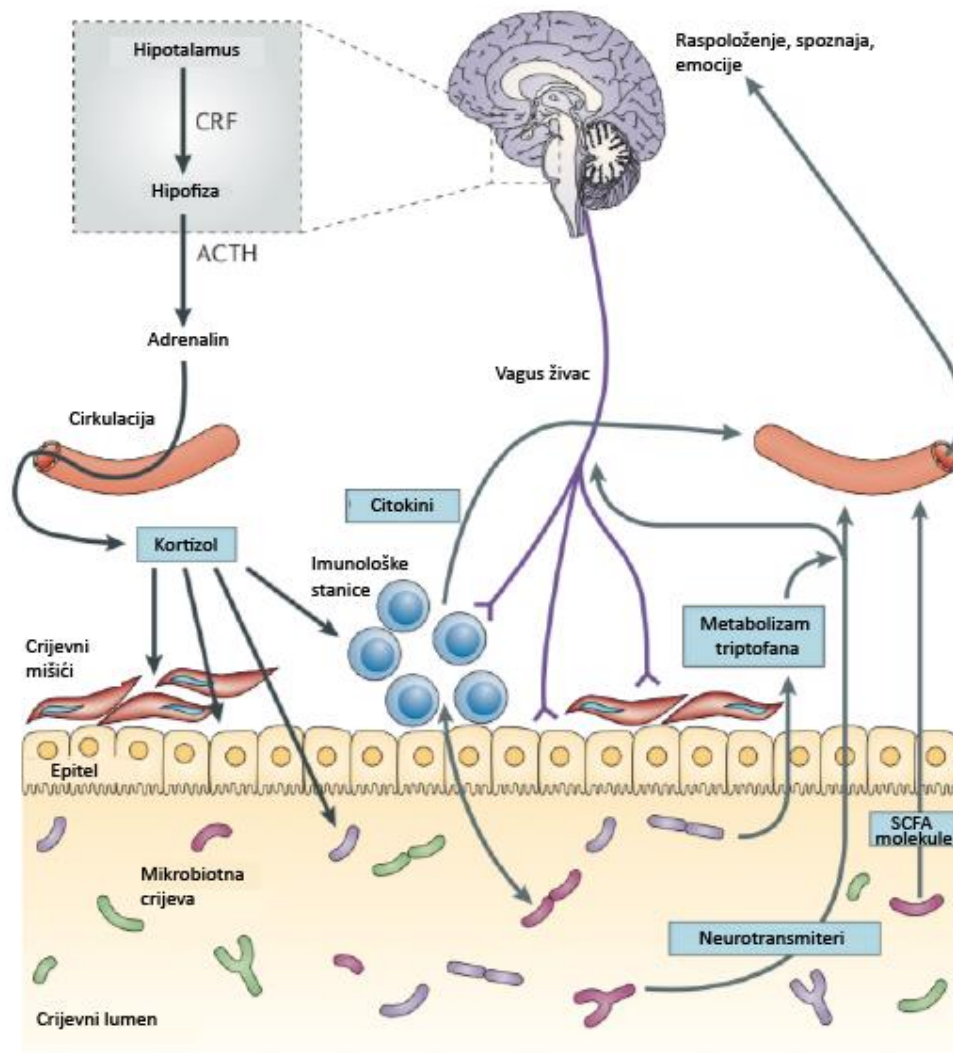
Dvosmjerna kompleksna mreža između crijeva i mozga koja objedinjuje neuralne, hormonalne i imunološke puteve, vrlo je bitna stavka u održavanju homeostaze domaćina. Međutim, disfunkcija te veze može dovesti do raznih patofizioloških posljedica. Promjene u sastavu crijevne mikroflore, koje mogu biti posljedica upale crijeva, sindroma kronične boli u abdomenu i poremećaja prehrane, usko su povezane s promjenama u mozgu što dovodi do stresnog odgovora i promjene ponašanja. Danas je također dobro poznato da stres i slične aktivnosti osovine hipotalamus – hipofiza – nadbubrežna žlijezda (*hypothalamus – pituitary – adrenal axis*, HPA) utječu obratno na kompoziciju mikroflore crijeva, međutim o posljedicama se još ne zna mnogo. HPA veza poznata je zbog svoje uloge u regulaciji odgovora tijela na stresne uvjete. Ona uključuje dijelove mozga poput hipotalamusa i hipofize te nadbubrežnu žlijezdu. Kada se tijelo suoči sa stresnom situacijom, hipotalamus luči kortikotropin, oslobađajući hormon (engl. *corticotropin – releasing hormone*, CRH) koji zatim djeluje na hipofizu zbog koje ona kreće otpuštati adrenokortikotropni hormon (engl. *adrenocorticotropic hormone*, ACTH). On zatim putem krvi djeluje na nadbubrežne žlijezde koje pokreću sintezu i lučenje kortizola u krv. To je glavni hormon koji omogućuje brojne fizičke i psihičke promjene u tijelu koje reagira na stres. Stres se javlja kao normalan odgovor tijela na određeni događaj s ciljem zaštite od mogućih prijetnji i predatora. Otpuštanje adrenalina i kortizola u krv osigurava „borbu ili bijeg“ (engl. *fight or flight*) stanje što u normalnim razmjerima nije štetno za organizam, već i poželjno. Međutim, kronični stres dovodi do raznih oboljenja i stanja koja mogu biti fizička i emocionalna. Primjerice, jedno od ranih istraživanja Tannočka i Savage (1974), provedeno na miševima, pokazalo je da promjena životne okoline, odnosno selidba u nove kaveze s manjkom hrane i vode dovodi do reduciranog broja *Lactobacillus* u mikroflori crijeva. Već je tada dokazano da stres i HPA utječu na kompoziciju bakterija, međutim zanimanja su danas počela biti usmjerena prema tome kakve posljedice ostavlja na domaćina promijenjena mikrobiota. Daljnja istraživanja rađena na *Rhesus* majmunima dovela su također do opažanja da u stresnim uvjetima dolazi do crijevne disbioze u kojoj se reducira broj *Lactobacillus*. Istraživanje je uključivalo *ad libitum* pristup hrani i vodi, a stres je uvjetovan odvajanjem

mladunčadi od majke u određenim vremenskim intervalima. Takva istraživanja rađena na majmunima i štakorima dovela su do zaključka da neonatalni stres dovodi do dugoročne promjene u raznolikosti i kompoziciji mikrobiote kao i do dugoročne promjene u stresnom ponašanju i HPA aktivnosti (O'Mahony i sur. 2011). Danas znanstvenike sve više zanima može li se dugoročni stres ublažiti ili čak i izliječiti putem promjene mikroflore crijeva. Osim što su dokazali da stres izravno utječe na brojnost bakterija u crijevima, postavlja se pitanje mogu li bakterije izravno ili svojim izlučenim supstancama djelovati obratno na mozak. Stres uzrokuje propusnost crijevne sluznice zbog čega promijenjena mikrobiota dobiva mogućnost izravnog prolaska iz crijeva u imunosni i živčani sustav. U prilog tome najnovija istraživanja pokazuju da rano liječenje takvih štakora s probioticima *Lactobacillus farciminis* reduciraju crijevnu propusnost uzrokovanu stresom i isto tako sprječavaju HPA preosjetljivost. Pokušaji liječenja pretjerane aktivnosti HPA veze uključuju transplantaciju dobrih, fekalnih bakterija iz kontrolnih, zdravih uzoraka, čime se djelomično obnavlja mikroflora i smanjuje stres. Druga metoda dokazano bolje obnavlja mikrofloru i smanjuje stres, a radi se o monoasocijaciji s *Bifidobacterium infantis* (Bailey and Coe 1999). Sva ta istraživanja jasno su demonstrirala da je sadržaj mikrobiote ključan za razvoj odgovarajućeg odgovora na stres kasnije u životu i da se također mora uzeti u obzir vrijeme kolonizacije crijeva, koje se mora dogoditi što ranije u životnoj dobi kako bi se osigurao normalan razvoj HPA veze. Tek novije i modernije metode u istraživanjima omogućile su znanstvenicima povezivanje dosadašnjih dostignuća s promjenama u ponašanju i mikroflorom crijeva. Postalo je jasno da se svaki od sojeva miševa međusobno razlikuje u mnogim aspektima fiziologije i ponašanju uključujući i kompoziciju mikrobiote (Kovacs i sur. 2011). Dokazi za to objedinjuju i istraživanja u kojima su znanstvenici manipulirali crijevnim bakterijama, bilo u GF miševima ili onima koje su tretirali probioticima i/ili antibioticima ili namjernim unosom patogenih bakterija. Nedavna studija (Bercik i sur. 2011) iskoristila je dosadašnja saznanja i pokušala je izravno dokazati koliko mikrobiota i njena promjena utječu na ponašanje različitih sojeva miševa. Uzgojili su GF miševe dva različita soja: BALB/c i NIH Swiss miševe kojima su naknadno kolonizirali crijeva. Jedan dio miševa tih sojeva dobio je svoju vlastitu mikrobiotu (onu koju imaju miševi iz kontrolne skupine) te su takvi miševi, sukladno tome, pokazivali slično ponašanje kao i kontrolni miševi. Drugom dijelu GF miševa iz tih sojeva kolonizirana je mikrobiota onog drugog soja; dakle BALB/c soju dana je mikrobiota od NIH Swiss i obratno. Takvi miševi pokazivali su slično ponašanje onog soja čija je

prvotno bila mikrobiota. Zatim su u mnogim drugim istraživanjima mjerili koncentracije određenih supstanci u mozgu kod GF životinja i uspoređivali s kontrolnim uzorcima. Rezultati su pokazali da GF životinje imaju povišenu koncentraciju 5-HT (serotonina) u hipokampusu kao i njegova glavnog metabolita 5–hidroksiindolactene kiseline (Clarke i sur. 2012). Plazmatske koncentracije triptofana, prekursora u biosintezi serotonina, također su bile povišene. Time je sugeriran humoralni put kojim mikrobiota može utjecati na serotonergične transmisije u CNS-u (Clarke i sur. 2012). Sva ova istraživanja razjašnjavaju mehanizme komunikacije bakterija i mozga putem osovine mozak – crijevo– mikrobiota. Dakle, sve veći broj dokaza ukazuje i da mikrobiota ima veliku ulogu u regulaciji normalnog ponašanja domaćina pa i u regulaciji kemije u mozgu koja je bitna kod raspoloženja i anksioznosti.

## 2.2. Mogući putevi signalizacije

Kada se govori o povezanosti organa u ljudskom organizmu, mora se naglasiti da se radi o vrlo kompleksnoj mreži izmjene informacija. U dvosmjernoj komunikacijskoj vezi između mikroba u crijevima i mozga odnosno CNS-a izdvaja se nekoliko važnih signalnih puteva koji uključuju aktivnost: ANS-a, neuroendokrinog i neuroimunološkog sustava (Slika 1 ).



**Slika 1.** Razni direktni i indirektni putevi uključeni u dvosmjernu komunikaciju crijevnih bakterija i mozga u kojoj mikrobiota utječe i mijenja mozak – crijevo – mikrobiota osovину  
(Preuzeto i prilagođeno prema Cryan i sur, 2012.)

Živac vagus (*lat. nervus vagus*, X kranijalni živac) čini izravnu vezu središnjeg živčanog sustava i perifernog živčanog sustava koji uključuje i crijevni živčani sustav. Ta veza uključuje eferentne i aferentne živčane završetke. Najveći dio komunikacije mikrobiote i probiotika s CNS-om ostvaruje se upravo putem vagusa (Bercik i sur. 2012), što je utvrđeno u eksperimentima gdje se provela vagotomija na životinjskim modelima.

Drugi signalni put uključuje imunološki put kojim makrofazi sa svojim molekularnim obrascima patogenih mikroorganizama (engl. *pathogen-associated molecular patterns*, PAMP) reagiraju na peptidoglikane u staničnoj stijenci mnogih crijevnih bakterija. Time dolazi do aktivacije fagocita, produkcije i otpuštanja citokina. Primjeri takvih citokina jesu interleukin IL-1, IL-6 i čimbenik tumorske nekroze (engl. *tumor necrosis factor*, TNF- $\alpha$ ) čije povišene koncentracije u krvi i serumu mogu oštetiti krvno-moždanu barijeru (engl. *blood-brain barrier*, BBB). Disbioza, infekcije, mehanička oštećenja i degenerativne promjene u starosti, koje dovode do oštećenja epitelno crijevne barijere, uzrokuju da bakterije i njihovi metaboliti pokrenu lučenje proupalnih citokina i upalne reakcije. Neliječena upala, povišeni interleukini i TNF- $\alpha$  u krvi u plazmi i oštećena BBB osiguravaju ulazak bakterijskih metabolita i toksina u mozak, a to može dovesti do širenja upale i neurodegeneracije.

Mikroflora u crijevima pretvara hranjive tvari, uključujući makro- i mikronutrijente, vlakna i polifenolne spojeve u razne metabolite: kratkolančane masne kiseline (engl. *Short Chain Fatty Acids*, SCFA), trimetilamine, aminokiselinske derivate i vitamine.

SCFA su male organske monokarboksilne kiseline poput acetata, propionata i butirata, a produkt su bakterijske fermentacije vlakana i biljnih polisaharida (inulin). Imaju ulogu u skladištenju energije i ugljika što potiče rast mikrobiote. Također stimuliraju cirkulaciju krvi u debelom crijevu, peristaltiku, resorpciju vode i soli te stvaraju osjećaj sitosti (Salminen i sur. 1998). Imaju sposobnost prolaska kroz krvno-moždanu barijeru i time utječu na CNS. U više istraživanja butirati su unošeni u životinjske modele na razne načine pri čemu se pokazalo da mogu pozitivno djelovati na BBB oštećenja, pospješiti neurogenezu (Li i sur. 2018; Li i sur. 2016; Kim i sur. 2007) i smanjiti upale CNS-a (Matt i sur. 2018) te poboljšati memoriju i učenje (Fischer i sur. 2007).

Vitamini su esencijalni mikronutrijenti koje ljudi dobiju hranom ili od vlastite mikrobiote. Vitamini K produkt je *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Propionibacterium* i *Eubacterium*; B2 (riboflavin) stvara *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli*; B9 (folna kiselina) od *Bifidobacterium*, *Lactococcus lactis* i *Streptococcus thermophilus*, a B12 (kobalamin) *Lactobacillus reuteri* i *Propionibacterium freudenreichii* (LeBlanc i sur. 2012). Zajednička glavna uloga im je održavanje i zaštita crijeva i sistemskog zdravlja. Vitamin K esencijalan je u procesu tromboze i vezan je uz Parkinsonovu bolest (Da Silva i sur. 2013). Nedostatak vitamina

B dovodi do određenih neuroloških bolesti poput beri-beri, polineuropatije i cerebrealne ataksije (Langohr i sur. 1981). Folna kiselina ima ulogu u razvoju neuralne cijevi u prenatalnom razdoblju i prevenciji od neuropsihijatrijskih oboljenja (Finglas i sur. 2003), a njegov nedostatak utječe na kognitivne funkcije i demenciju (Agnew-Blais i sur. 2015).

Neurotransmiteri i neuropeptidi četvrti su mogući način komunikacije crijeva i mozga. Produkti su nekih crijevnih bakterija poput *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Escherichia*, *Enterococcus* i *Truchuris*, a najzanimljiviji su GABA, serotonin i neutrofni moždani faktor (engl. *brain – derived neurotrophic factor*, BDNF).

Sojevi *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* sintetiziraju GABA, glavni inhibitorni neurotransmitter CNS-a, a služi i kao zaštita crijevnih bakterija i crijeva od prekiselog pH. Postavlja se pitanje kako je moguće da i domaćin i bakterije u crijevima proizvode i komuniciraju istim molekulama. Iyer i kolege (2004) pretpostavili su interesantnu teoriju u kojoj govore da je došlo do kasnog horizontalnog prijenosa gena između komezala i domaćina. Bakterije sadrže gene za kodiranje enzima koji sudjeluju u biosintezi molekula kojima one normalno komuniciraju npr. GABA, a putem prijenosa gena u eukariotsku stanicu i domaćin je dobio mogućnost proizvodnje GABA molekula što je postala jedna od mogućih komunikacijskih puteva domaćina i bakterija. Disfunkcija GABA-a dovodi se u vezu s određenim kroničnim bolestima kao što su anksioznost i depresija.

Serotonin (engl. *5-hydroxytryptamine*, 5-HT) je neurotransmitter koji sudjeluje u regulaciji gotovo svih moždanih funkcija i oblikuje brojne psihofiziološke procese: raspoloženje, san, bol, agresivnost i seksualno ponašanje. Jedan od značajnijih metabolita jest i aminokiselina triptofan (Trp), prekursor mnogim biosintetskim putevima, a sudjeluje i u sintezi neurotransmitera serotonina. Najveći dio serotonina (oko 90 %) stvaraju *Enterochromaffin* stanice probavnog sustava, a manji dio sojevi *Escherichia* i *Enterococcus* crijevnog sustava (Cryan i Dinan 2012). Kontrolirajući produkciju serotonina, mikrobiom crijeva izravno utječe na funkcije mozga. Disregulacija serotoninergičkog sustava uočena je u patogenezi brojnih neuropsihijatrijskih bolesti kao što su anksioznost i depresija.

Neutrofni moždani faktor (engl. *Brain derived neurotrophic factor*, BDNF) neurotrofin je protein koji ima značajnu neuroprotektivnu ulogu održavajući neurone zdravima i potičući rast i diferencijaciju novih neurona u CNS-u (Nicodemus i sur. 2014). Njegova najveća aktivnost

zabilježena je u hipotalamusu i korteksu mozga gdje ima veliku ulogu u učenju, memoriji i višim kognitivnim procesima. Smanjene razine BDNF-a povezane su s kroničnom depresijom zbog čega brojni antidepresivi rade na principu povećanja ekspresije BDNF-a u mozgu. Koncentracije BDNF mRNA i proteina također su jedan od načina komunikacije crijevnih bakterija i mozga preko BGM osovine. Butirat, inhibitor histon deacetilaze, dokazano utječe na ekspresiju BDNF-a u hipokampusu (Martins-De-Souza 2010). Bercik i kolege (2011) istraživali su utjecaj crijevne mikroflore na ponašanje i kemiju mozga u miševima. Dokazali su da davanje antimikrobnih lijekova oralnim putem SPF miševima mijenja mikrobiotu u crijevima, povećá ekspresiju BDNF-a u hipokampusu i istraživačko ponašanje. Antimikrobni lijekovi u GF miševa nisu pokazali nikakve učinke na mozak i ponašanje čime su utvrdili da na lijekove u crijevima utječu bakterije koje posljedično tome mijenjaju ekspresiju BDNF-a u mozgu.

### 3. NEUROPSIHIJATRIJSKI POREMEĆAJI

Homeostaza podrazumijeva zdravu, kontrolirajuću upalu u kojoj crijevne bakterije stimuliraju lučenje citokina i kemokina koji održavaju razinu crijevnih bakterija u probavnom sustavu. Osim što reguliraju lokalni imunوسي odgovor, mikroflora može sintetizirati i otpuštati neurotransmitere i SCFA molekule kao i utjecati na otpuštanje neuropeptida i hormona iz enteroendokrinih stanica crijeva. Smatra se da crijevni peptide poput grelina, gastrina, oreksina, galanina, kolekistokinina, leptina i neuropeptida Y utječu na perifernu živčanu komunikaciju, ali i na središnji živčani sustav utječući na mozak i ponašanje. Sadašnje hipoteze predlažu da cirkulirajući citokini, kemokini, endokrini glasnici i ostali produkti mikrobiote mogu proći BBB i ući u krv i limfu ili nošeni vagusom i ostalim putevima živčanog sustava utjecati na sve događaje posredovane CNS-om uključujući aktivnost HPA osovine i upalnih procesa koji mogu izazivati velik broj posljedica i bolesti mozga i živčanog sustava u cjelini.

#### 3.1. Psihički poremećaji: anksioznost i depresija

Anksioznost odnosno tjeskoba okarakterizirana strahom jedan je od najčešćih psihijatrijskih poremećaja (Baxter i sur. 2013); globalno više od 350 milijuna ljudi ima simptome depresije (Kessler i Bromet, 2013). Ti poremećaji mentalnog zdravlja značajno doprinose gubitku produktivnosti i financijski opterećuju zdravstveni sustav i ekonomiju (Center for Disease Control 2013). Mnogi pacijenti ne odgovaraju na tradicionalne načine terapije (primjerice antidepresive) zbog čega se znanstvenici moraju okrenuti novim načinima liječenja. Da bi to bilo uspješno, treba razumjeti mehanizam tih bolesti. Dokazano je da nekoliko neurobioloških mehanizama izaziva takva stanja: kemijska neravnoteža u mozgu, upala i stres. Primjerice, smanjena koncentracija ključnih neurotransmitera (serotonina, noradrenalina, dopamina), promjene u neuroendokrinim putevima i hormonima (kortizolu) kao i povećana koncentracija proupalnih citokina (IL-6) dokazano uzrokuju takve bolesti. Budući da mikroorganizmi preko autonomnog živčanog, imunološkog i neuroendokrinog sustava mogu utjecati na ponašanje, znanstvenici analizom osovine BGM pokušavaju otkriti vezu disbioze i pojave tih sindroma.

Prema Američkoj psihijatrijskoj udruzi, anksioznost je okarakterizirana promjenama u ponašanju, fobijama, strahovima i paničnim epizodama. Neufeld i kolege (2011) uočili su da GF



laboratorijske životinje pokazuju manje anksiozno ponašanje nego SPF životinje. Zatim to potvrđuju Arensten i kolege (2015) koji su otkrili da GF životinje pokazuju veću druželjubivost. To je sve dovelo do otkrića da crijevne bakterije imaju glavnu ulogu u kontroli mehanizma koji utječu na anksiozne simptome. Zatim je detaljnim analizama dokazano da GF miševi pokazuju veće indekse serotonina i 5-hidroksiindolactone kiseline, što je povezano sa smanjenim simptomima anksioznosti (Clarke i sur. 2013). Zanimljivo je istraživanje od Desbonnet i kolega (2014) u kojem su adolescentni miševi tretirani određenim antibioticima u namjeri otklanjanja bakterija. Analiza rezultata tih miševa otkrila je kognitivne promjene, smanjenu anksioznost, deficite u memoriji i poteškoće u identifikaciji novih i uobičajenih objekata. Lyte i kolege (2006) određenim sojevima bakterija, na primjer *Citrobacter rodentium*, tretirali su CF-1 miševima kojima su se nakon toga pojačali simptomi anksioznosti.

Depresija kao multifaktorijalna bolest može biti rezultat bioloških, psiholoških i socijalnih faktora (Uher i McGuffin 2010) iako se još uvijek precizno ne znaju etiološki procesi tog poremećaja. Tehnološkim napretkom u području istraživanja genetike i molekularne biologije potvrđuje se da su simptomi depresije povezani sa stresom, odnosno HPA osovinom i načinom života. Neki od simptoma depresije jesu: depresivno raspoloženje, gubitak interesa i zadovoljstva u uobičajenim aktivnostima, smanjena životna energija, poremećaji spavanja, koncentracije i apetita, smanjeno samopoštovanje i samopouzdanje, ideje krivnje i bezvrijednosti, pesimističan pogled na svijet kao i ideje o samoozlijeđivanju i samoubojstvu, ali i vrlo usko je povezan s anksioznosti koja također može biti jedan od pokretača depresije (Hirschfeld 2001). Proučavajući mehanizme djelovanja određenih antidepresiva, znanstvenici su otkrili da je uzrok depresije u manjkavoj funkciji ili količini neurotransmitera (serotonina, noradrenalina i dopamina), a svi oni mogu biti sintetizirani u crijevu od strane mikrobiote. Najviše istraživanja u razjašnjavanju etiologije depresije posvećeno je serotoninu. On se sintetizira iz aminokiseline Trp, a metabolizira ga enzim monoaminooksidaza u 5-hidroksiindolactone kiselinu (5-HIAA) koja se može mjeriti u cerebrospinalnom likvoru i 24-satnom urinu. U serumu pacijenata može se naći snižena vrijednost BDNF-a s čime su povezani stres i osjećaj boli, a antidepresivi povećavaju njegovu sintezu u hipokampusu. Iako postoje i istraživanja na životinjskim modelima s isključenim BDNF genom (BDNF *knockout mice*), nisu u svim slučajevima pokazali nedostatak BDNF-a s depresivnim i anksioznim ponašanjem. Čak 70 – 90 % pacijenata skloni su crijevnim upalama, što može biti još jedna od poveznica mikroflore crijeva s ovim poremećajem (Garakani

i sur. 2003). Mikroorganizmi u crijevima mogu utjecati na depresiju utječući na HPA osovinu, a time na BGM vezu. U jednoj studiji Zeng i sur. (2016) primijećena je smanjena brojnost *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, a Kelly i sur. (2016) potvrdili su njihove rezultate smanjene raznolikosti crijevnih bakterija kod oboljelih od depresije. Zatim su rađena istraživanja kako inducirani stres u mladunčadi utječe na disbiozu i pojavu simptoma velikih epizoda depresije. Stres su inducirali odvajanjem mladunčadi od majke što je u odraslom razdoblju rezultiralo depresivnim simptomima zajedno s promjenama u monoaminima, imunološkom sustavu i HPA aktivnosti (O'Mahony i sur. 2009; O'Mahony i sur. 2011; Desbonnet i sur. 2010). Mnogi radovi potvrdili su disbiozu mikrobiote odnosno njenu smanjenu raznolikost zbog stresa, a O'Mahony i suradnici (2009 i 2011) analizama su potvrdili i preosjetljivost debelog crijeva. Zanimljiva studija i analize De Palme i suradnika (2015) također je koristila inducirani stres odvajanjem mladunčadi od majke, ali na GF miševima. Rezultati prikazuju povišenu razinu kortikosterona u odraslih miševa, ali ne i anksiozno ili depresivno ponašanje što nam opet potvrđuje da je mikroflora nužna za razvoj takvih stresom induciranih bolesti. Potrebno je dublje razumijevanje mehanizama kojima određeni mikrobi i disbioza utječu na anksiozno i depresivno ponašanje kako bi mogli s odgovarajućim strategijama ciljati na njihovo rješavanje.

### 3.2. Autizam

Autizam (engl. *Autism Spectrum Disorders*, ASD) obuhvaća grupu neurorazvojnih poremećaja povezanih s deficitima u socijalnim interakcijama, u ponašanju i općenito ponavljajućim i stereotipiziranim radnjama i ponašanjima. Pojedinci pokazuju i izmjene u razvoju moždanih funkcija (Christensen i sur. 2016), ali i simptome poput probavnih smetnji (na primjer zatvor i proljev) (Coury i sur. 2012). Osim potrebne genetičke podloge za razvoj bolesti, znanstvenici su uočili i različitosti u kompoziciji mikrobiote crijeva kod bolesne i zdrave djece (Finegold 2011), a oko 70 % ispitanika s tim poremećajem ima gastrointestinalne poremećaje, ukazujući na potencijalnu povezanost osovine BGM s razvojem bolesti (Dinan i Cryan 2015). Doista, najveći dio djece s ASD pokazivao je simptome slične onima koji se pojavljuju u pacijenata s IBS (Buie i sur. 2010). Rezultati nekih studija pokazuju kako su pretilost i dijabetes tijekom trudnoće izravno povezani s mogućnošću dobivanja autizma kod djeteta (Connolly i sur. 2016). Zanimljivo je da djeca s ASD pokazuju veću raznovrsnost mikroflore crijeva u usporedbi sa zdravom djecom (Finegold i sur. 2010). Primjerice, pronađena je veća nadmoćnost

*Bifidobacteria* u zdravih ispitanika u usporedbi s oboljelima (Finegold i sur. 2002), ali baš zbog toga se *Clostridium* uspio više razviti kod djece s ASD koje pokazuju alergije na hranu i dječji IBS sindrom (Adams i sur. 2011). Također su u fecesu oboljelih češće pronađeni sojevi *Bacteroides vulgatus* i *Desulfovibrio*. Nedavno istraživanje imunološom aktivacijom (engl. *maternal immune activation, MIA*) životinjskim modelom autizma pokazuje povećanu crijevnu propusnost i mikroflornu disbiozu (Hsiao i sur. 2013). Oralno davanje *Bacteroides fragilis* ublažilo je disbiozu kod MIA miševa i smanjilo određene simptome ASD sindroma, što prikazuje nove potencijalne načine liječenja kod neuroloških bolesti povezanih s mikroflorom crijeva.

### 3.3. Alzheimerova bolest

Alzheimerova bolest (engl. *Alzheimer's disease, AD*) je najčešći oblik demencije koji obuhvaća neurodegenerativne poremećaje s kompleksnom etiologijom o kojoj se još malo toga zna. Jaki kognitivni poremećaji u toj bolesti povezani su s akumulacijom proteinskih agregata od amiloidnih plakova (amiloidoza) i abnormalnog tau proteina u tkivu CNS-a. Određene mikrobnе infekcije ciljaju CNS i tvore dodatne faktore koji mogu unaprijediti kroničnu infekciju u CNS-u i dovesti do amiloidoze i sinaptičkih degeneracija. Nadalje, bakterijske su infekcije pokazale svoju moć indukcije formacije amiloidnih peptidnih oligomera. Neki od tih oligomera (amiloid beta / A $\beta$ ) imaju potencijalno antimikrobno djelovanje čime se može smanjiti infekcija mozga (Kumar i sur. 2016). Dok s druge strane A $\beta$  tvore patogene plakove i pomažu patogenezi neuralnih funkcija i smrti neurona zbog toksičnog djelovanja. Ovi dokazi govore da bakterijske infekcije koje dovode do formacije abnormalnih amiloidnih proteina mogu biti jedan od uzročnika Alzheimerove bolesti. APP/PS1 miševi, koji imaju pretjeranu ekspresiju amiloid prekursor-proteina i presenilina 1 (bitnoga za produkciju A $\beta$  iz amiloidnog prekursor-proteina (APP)), imaju manje crijevnih bakterija iz roda *Allobaculum* i *Akkermansia*, a više porodice *Rikenellaceae* (Harach i sur. 2017). Terapija tih miševa obuhvaća davanje koktela antibiotika, a rezultati pokazuju smanjenje akumulacije mikroglia stanica i astrocita oko amiloidnih plakova u hipokampusu (Minter i sur. 2016). Druga studija identificirala je još proupalnih bakterija, kao na primjer *Escherichia* i *Selaginella*, iz uzoraka fecesa oboljelih od AD, a s njima su pronađene i veće koncentracije proupalnih citokina (na primjer IL-1 $\beta$ ) u krvi (Cattaneo i sur. 2017). Crijevna propusnost još je jedan od mogućih mehanizama povezanosti mikroflore s AD (Scott i sur. 2017) potičući bakterije da prijeđu iz lumena crijeva i posreduju neuroupali. Ta hipoteza poduptra je

dokazima: u pacijenata oboljelih od AD pronađene su povišene razine lipopolisaharida (engl. *lipopolysaccharide*, LPS) u mozgu (Zhan i sur. 2016). Najbolji modeli za proučavanje Alzheimerera jesu genetski modificirani miševi 5xFAD koji mogu brzo razviti amiloidne plakove i time izgubiti mnogo neurona u CNS-u, a proučavajući njihovu mikrobiotu, analiza rezultata pokazuje veće varijacije u sastavu nego kod divljih tipova. Treba još mnogo rada u tom području za moguće razrješenje točnog puta kojim mikroflora utječe na razvitak AD-a, kao i pronalaska određenih bakterija koje su uzrokuju simptome i pogoršanje bolesti.

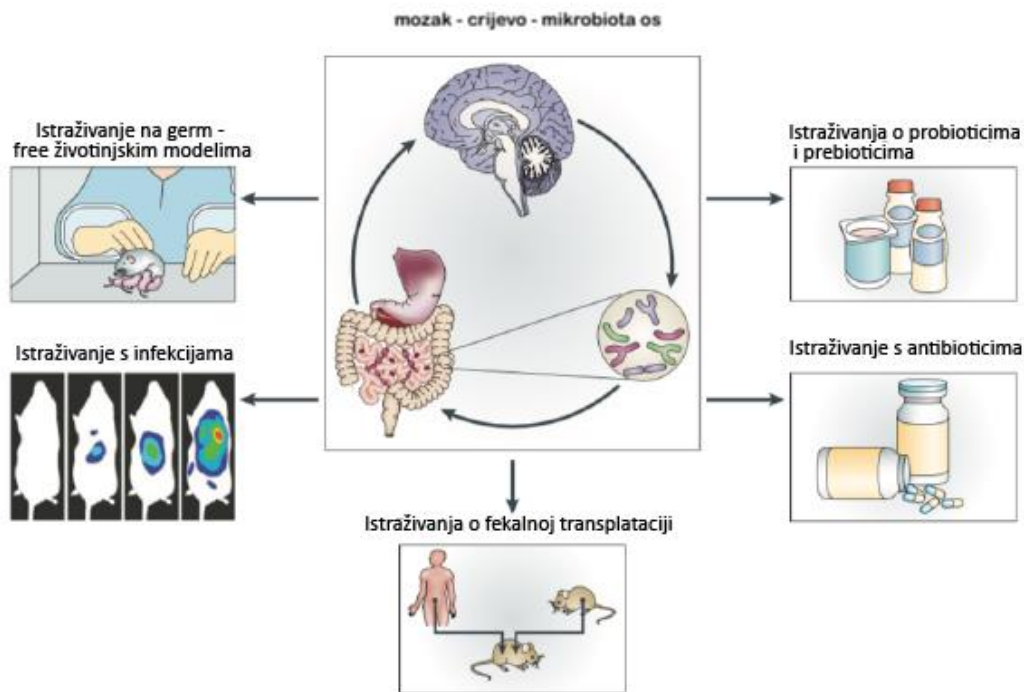
### 3.4. Parkinsonova bolest

Parkinsonova bolest (engl. *Parkinson's disease*, PD) progresivana je bolest živčanog sustava koja utječe na kretanje. Simptomi kreću postupno – prvo na jednoj strani tijela, a može biti slabo podrhtavanje u jednom od ekstremiteta. Podrhtavanja s vremenom postaju sve češća, a bolest može dovesti i do krutosti ili usporavanja pokreta i cijelog tijela (bradikinezija). Ostali su simptomi: nemogućnost pravilnog držanja, gubitak ravnoteže, gubitak automatskih pokreta (na primjer treptanja, osmijeha, zamahivanje rukama tijekom hodanja), promjene u govoru i pisanju. Na staničnoj razini dolazi do raspadanja ili smrti pojedinih neurona u mozgu. Mnogi od ovih simptoma posljedica su gubitka neurona koji sintetiziraju neurotransmitere poput dopamina. Kada se razina dopamina spusti, dođe do abnormalne aktivnosti mozga stvarajući navedene simptome i bolest. Predlažu se neki od mogućih uzroka bolesti: genetička podloga, izlaganje određenim toksinima ili okolišnim faktorima i crijevna disbioza koja prati crijevnu upalu. Predložena etiologija razvila se iz mnogih epidemioloških istraživanja na životinjskim modelima koja povezuju PD s patogenim alfa sinukleinom ( $\alpha$ Syn) sintetiziranim i akumuliranim u probavnom sustavu. Predloženi niz događaja uključuje faktore poput starosti, upale ili disbioze, a akumulacija  $\alpha$ Syn-a u crijevima dovodi do transsinaptičkog prijenosa patoloških formi  $\alpha$ Syn-a iz ENS-a u vagusni živac i mozak (Braak i sur. 2004; Peelaerts i sur. 2015; Breen i sur. 2019). Početak crijevne infekcije u PD životinjskim modelima i akumulacije  $\alpha$ Syn u crijevnom tkivu vidljiv je prije početka motornih simptoma. Također, studije u kojima je  $\alpha$ Syn ekspresija i akumulacija namjerno izazvana u štakora pokazuju da je to dovelo do detekcije  $\alpha$ Syn-a u vagusu i nekim regijama mozga (Uemura i sur. 2018). Razlozi koji potiču proizvodnju i akumulaciju  $\alpha$ Syn-a u crijevima u ljudi s PD ostaju zasada nepoznati, a njegovo širenje na vagus i mozak nije

jedini mehanizam progresije. Otkrili su i druge načine transmisije  $\alpha$ Syn-a: putem splahnhičnog živca (lat. *nervus splanchnicus*) koji inervira debelo crijevo, olfaktornim neuronima ili putem imunoloških stanica. Dakle, vagus nije jedini posrednik prijenosa  $\alpha$ Syn-a iz crijeva u CNS, a dokazi za to jesu istraživanja na životinjskim modelima bez vagusa u kojima su se simptomi PD bolesti naposljetku javili, ali kasnije no što su očekivali (Pan i sur. 2012). Slijepo crijevo, u kojem se nalazi raznolik mikrobiom (Guinane i sur. 2013), također je predložen kao mjesto  $\alpha$ Syn djelovanja (Gray i sur. 2014) i modulacije simptoma u PD utječući na mikrobnu i imunološku homeostazu. Dakle, iako bakterije u crijevima mogu modulirati agregaciju  $\alpha$ Syn proteina, zasad nije povezano koji točno sojevi bakterija imaju ulogu u tranziciji iz benignog u patogeni  $\alpha$ Syn oblik.

#### 4. NOVIJI PRISTUPI U LIJEČENJU PATOFIZIOLOŠKIH STANJA

Novije znanstvene metode otkrivaju nam sve veću važnost crijevne mikrobiote u razvoju kroničnih crijevnih bolesti, ali i psihopatoloških oboljenja (Slika 2). Znanstvenici pokušavaju pronaći što prirodnije putove poboljšanja mikroflore crijeva u svrhu pronalaska potpuno prirodnih i neinvazivnih terapija, a time i zdravog načina života. Sve je veći broj pacijenata s upalama probavnog sustava, na primjer s IBS-om i velikim depresivnim epizodama koje pokazuju da poremećaji HPA funkcije i aktivnosti mogu biti izazvani gastrointestinalnom propusnošću. Ista obilježja pokazuju i Crohnova bolest i ulcerativni kolitis, odnosno, promijenjenu ekspresiju proteina čvrstog spoja kladina i okladina (Heller i sur. 2005; Zeissig i sur. 2007). Crijevna epitelna barijera vrlo je važna u regulaciji funkcije same probave, a inače služi i kao zaštita od ulaska patogena i toksičnih supstanci (Farhadi i sur. 2003). Dokazano je da crijevna barijera može biti lako modificirana bakterijama u crijevu (Tlaskalova-Hogenova i sur. 2011; Jakobsson i sur. 2015) ili njihovim metabolitima (Elamin i sur. 2013) kod stresa ili raznih oboljenja. Ako dođe do disbioze u mikroflori, doći će do povećane intestinalne propusnosti, a time i do raznih poremećaja. Potrebno je još mnogo pretkliničkih i kliničkih istraživanja kod pronalaska novih terapija koje mogu biti usmjerene na poboljšanje mikroflore, pa time i epitelne barijere, ili će možda crijevna propusnost zapravo omogućiti brže i bolje reagiranje pacijenata na bolesti. Naravno, treba uzeti u obzir da se mikroflora crijeva svake osobe unutar vrste razlikuje, a pogotovo su velike razlike crijevnih bakterija između vrsta. Potrebno je svako uspješno istraživanje na životinjama pažljivo promotriti ako se želi dalje provesti na ljudima jer supstance za koje je dokazano da imaju određeno djelovanje u štakora, ne moraju jednako djelovati i na ljude.



**Slika 2.** Strategije koje se koriste za istraživanje uloga BGM osovine

(Preuzeto i prilagođeno prema Cryan i sur, 2012.)

#### 4.1. Probiotici

Probiotici su živi mikroorganizmi koji, kada se uzimaju u odgovarajućim količinama, imaju pozitivan učinak na domaćina (Quigley 2008). Oni su vrlo slični mikroorganizmima koji prirodno nastanjuju našu probavu, a mogu se naći u hrani (najčešće fermentiranoj), piću ili nekim dodacima prehrani. Ilya Ilyrich Metchinkoff još je prije 100 godina opazio da ljudi koji koriste puno fermentiranih proizvoda dulje žive. To ga je dovelo do zaključka kako su za to odgovorne bakterije koje sudjeluju u procesu fermentacije proizvodeći mliječnu kiselinu, a kompetiraju patogenim bakterijama u crijevu domaćina. Danas znamo da je govorio o *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, najčešće korištenom koktelu probiotika jer održavaju raznovrsnost mikroflore crijeva i homeostazu domaćina. Prva zamisao funkcije probiotika kao lijeka bila je pronaći tretman kojim bi se ublažili simptomi u ljudi s jakim crijevnim upalama. Najveći uzročnik crijevnim upalama jest stres, a najistraženiji je takav sindrom IBS (Moloney i sur. 2016). IBS podržava vrlo varijabilnu osovinu mozak – crijevo – mikrobiota, tj. homeostazu zbog čega je usko povezan s anksioznošću i depresijom što se pokazalo i u nekim istraživanjima na

životinjskim modelima. Neke studije rađene na IBS pacijentima pokazale su kako je svim ispitanicima smanjena razina rodova *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* u crijevima (Nagel i sur. 2016, Rajilic-Stojanovic i sur. 2011), dok su ostala istraživanja pokazala pozitivne učinke tih bakterija na smanjenje anksioznosti, stresa i depresivnog ponašanja u ljudi i životinja. Upravo zbog tih funkcija *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* uspješno se koriste u terapijama kod smanjenja simptoma IBS-a, ali ujedno i u liječenju anksioznosti i depresije. Istraživanje prvotno provedeno na štakorima bilo je tretiranje s kombinacijom probiotika *Lactobacillus helveticus* R0052 i *Bifidobacterium longum* R0175. U analizama rezultata dobili su pozitivan učinak kombinacije probiotika na anksiolitičko djelovanje u štakora s anksioznim i depresivnim ponašanjem (Messaoudi i sur. 2011). Zatim je ta kombinacija ispitana i na 55 zdravih volontera kroz 30-dnevno istraživanje. Neki od njih su uzimali prave probiotike, dok su nekima dali placebo. Rezultati onih koji su uzimali prave probiotike pri ispunjavanju Hopkinsonove liste simptoma (engl. *Hopkins symptom checklist*, HSCL – 90) i bolničke skale za anksioznost i depresiju (engl. *Hospital Anxiety and Depression Scale*, HADS) pokazali su smanjeni indeks i simptome anksioznosti i depresije (Messaoudi i sur. 2011a). Budućnost u probioticima ne staje samo kod pronalaska terapije za određena stanja u ljudi, već su neke studije pokazale i druge uloge probiotika primjerice kod percepcije boli. Specifični sojevi poput *Lactobacillus* sposobni su inducirati ekspresiju  $\mu$ -opoidnih i kanabinoidnih receptora u epitelu crijeva i oponašati učinke koje daje morfin u analgetiku (Rousseaux i sur. 2007).

#### 4.2. Prebiotici

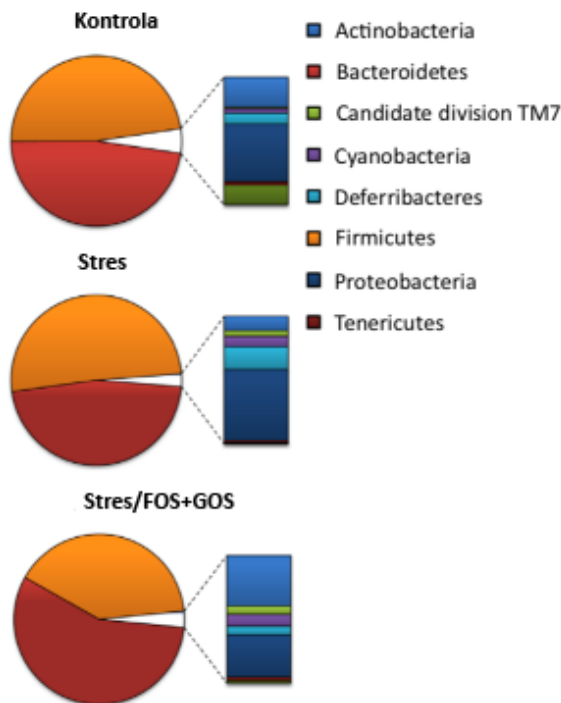
Prebiotici se definiraju kao komponente koje u određenim količinama mogu stimulirati rast i aktivnost određenih sojeva bakterija u crijevima. To je zapravo hrana za crijevne bakterije koje imaju pozitivne učinke na domaćina (Gibson 2004; Roberfroid i sur. 2010). Ako svaki soj preferira određenu hranu za svoj rast i aktivnost, onda se prebioticima također može manipulirati sastav crijevne mikroflore. Takve komponente nalazimo u hrani bogatoj vlaknima koju ne razgrade probavni enzimi domaćina već je fermentiraju bakterije crijevne flore. Najviše vlakana ima u namirnicama biljnog podrijetla poput povrća (cikorija, artičoka, češnjak, luk, poriluk, kelj), mahunarki (slanutak, leća, crveni grah, soja), voća (banane, jabučne kaše, lubenica, grejp), žitarica (mekinje, zob), orašastih plodova i sjemenki (badem, pistacij, sjemenke lana). Pretklinička i klinička istraživanja pokazuju da određeni prebiotici mogu utjecati na crijevnu



upalu, tako da je smanji, kao i na poboljšanje metaboličkih funkcija (Everard i sur. 2011; Greiner and Backhed 2011; Da Silva i sur. 2013; Dewulf i sur. 2013; Bindels i sur. 2015). No, vrlo malo istraživanja bavilo se ispitivanjem utjecaja prebiotika na CNS (22,24,25). Uzimanje prebiotika zbog manipulacije mikrobiote u ljudi još je daleko od primjene, no znanstvenici se novim istraživanjima brzo približavaju otkrićima zamjena za lijekove. U većini laboratorijskih istraživanja, tako i u radu Burakas i sur. (2017), koriste se prebiotici poput frukto-oligosaharida (FOS) i galakto-oligosaharida (GOS). Njihov cilj bio je provjeriti imaju li anksiolitičko djelovanje i antidepresivne učinke te mogu li smanjiti posljedice kroničnog stresa kod miševa. Najrelevantnije rezultate dobili su kod onih miševa kojima su davali kombinaciju FOS + GOS (Slika 3). Rezultati su pokazali smanjenu razinu kortikosterona i hipertermije, čije visoke razine ukazuju na kroničan stres. Nadalje, kronični se stres manifestira i kroz mnoge proupalne procese koji su se također normalizirali kod tih miševa. Uspješno je smanjena anhedonija, anksiozno i depresivno ponašanje u usporedbi s onim kod miševa s kroničnim stresom. Time je dokazan potencijal kombinacije FOS + GOS prebiotika koja bi se mogla istražiti kao zamjena za današnje anksiolitike i antidepresive. Zanimljivo je da ta kombinacija ima i neke preventivne sposobnosti na kronični stres. FOS + GOS prebiotici prevenirali su smanjenje brojnosti *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* što se inače manifestira u kroničnom stresu. Smanjen omjer *Actinobacteria* vs *Proteobacteria* također je uspješno normaliziran nakon tretmana kroničnog stresa tom kombinacijom prebiotika (Slika 4). Brojnost (*Bifidobacterium* i/ili *Lactobacillus*) i omjeri (*Actinobacteria* vs *Proteobacteria*) crijevnih bakterija mjere se i kod pacijenata koji boluju od depresije. Kod njih su također smanjeni omjer i brojnost tih sojeva bakterija (Jiang i sur. 2015; Aizawa i sur. 2016) kao i kod bolesnika s kroničnim stresom. Analizirana je i povećana brojnost *Akkermansia sp.* bakterije koja ima značajnu ulogu u zaštiti od pretilosti, inzulinskoj rezistenciji, crijevnim upalama, oštećenju crijevne barijere (Reunanen i sur. 2015) kao i u zadebljanju mucinoznog sloja (Everard i sur. 2013). Značajno je povećana i količina *Bacteroides* jer se u nekim studijama ispostavilo da bi *Bacteroides fragilis* mogao imati značajan utjecaj kod smanjenja autističnog ponašanja kod miševa (Hsiao i sur. 2013). Iako su mehanizmi kojima FOS i GOS djeluju na ponašanje i CNS još nepoznati, ono što se zna jest to da zasigurno mijenjaju ekologiju mikrobioma te da bi se jednog dana mogli davati ljudima kao moguće nove terapije u mnogim bolestima probavnog sustava i psihopatološkim stanjima. Zanimljiva je i druga studija koja je pokazala da mikrobiota miševa, koji su bili izloženi kroničnom socijalnom stresu,

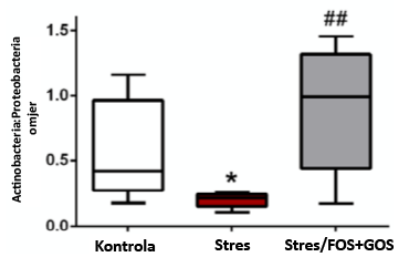
odgovara mikrobioti miševa s transplantiranim mikrobiomom pacijenata s depresijom (Kelly i sur. 2016).

### C Mikrobna distribucija na razini rodova



**Slika 3.** Mikrobna distribucija na razini rodova odnosno relativna brojnost pojedinih rodova bakterija izolirane iz debelog crijeva (cekuma) iz sve tri grupe miševa u istraživanju (Preuzeto i prilagođeno prema Burokas i sur., 2016.)

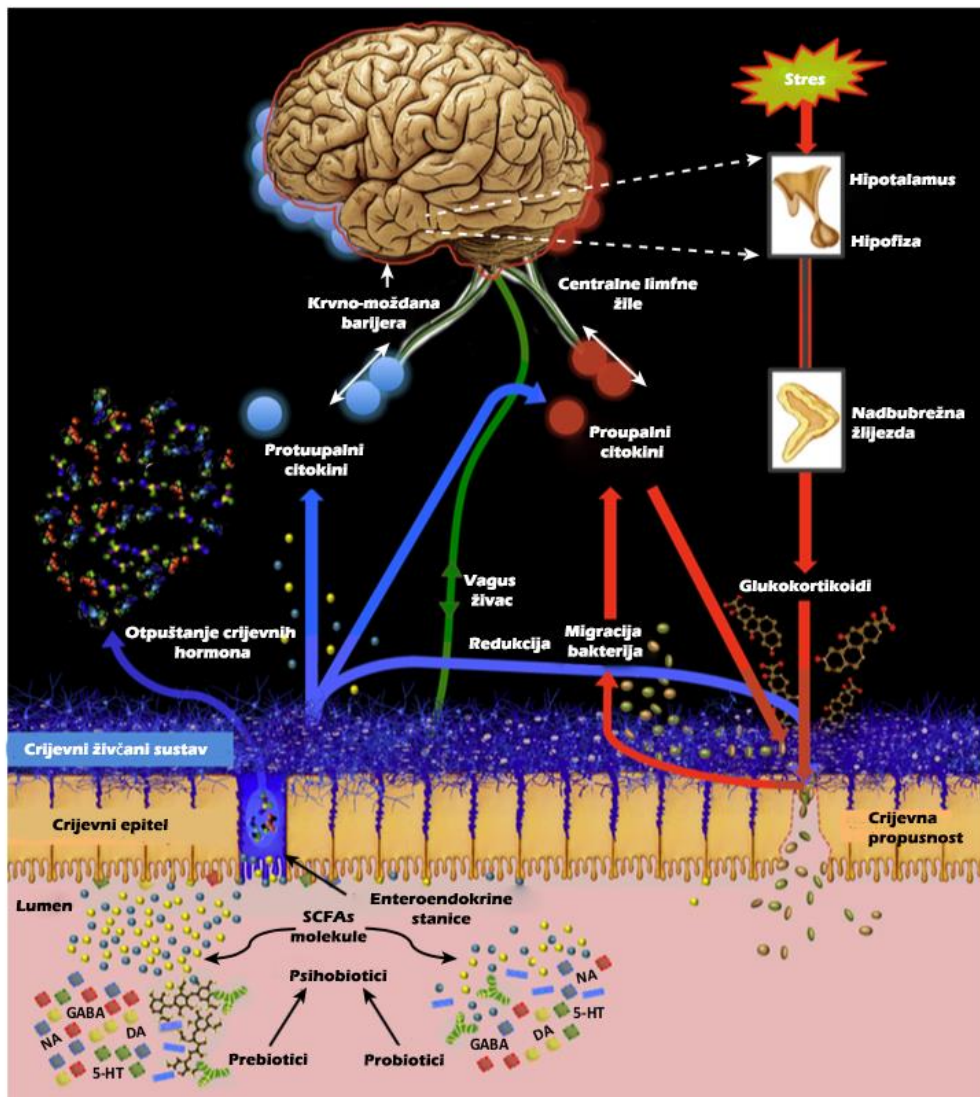
### B Actinobacteria:Proteobacteria omjer



**Slika 4.** Grafički prikaz omjera *Actinobacteria* vs. *Proteobacteria* i kako se kreće u sve tri grupe miševa u istraživanju (Preuzeto i prilagođeno prema Burokas i sur., 2016.)

### 4.3. Psihobiotici

Psihobiotici su novi terapijski lijekovi koji utječu na mentalno zdravlje domaćina mijenjajući mikrofloru crijeva, a uključuju probiotike i prebiotike. Utječu na osovinu BGM, putem imunološkog i crijevnog živčanog sustava, a manifestiraju se kroz emocionalne promjene, kognitivne, sistemske i živčane indekse. Najčešće se radi o gram-pozitivnim bakterijskim sojevima *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* ili o FOS i GOS oligosaharidima, izvorima nutrijenata za *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Psihofiziološki učinci psihobiotika dijele se u tri skupine: prva uključuje psihološke učinke na emocije i kognitivne procese; u drugoj skupini su učinci na osovinu HPA, odnosno odgovor na stres i upalne procese; a treća su učinci na živčani sustav odnosno na neurotransmitere i proteine (Slika 5). Znanstvenici su vrlo entuzijastični u vezi s tim područjem s obzirom na to da su uspješno proširili definiciju psihobiotika. Sve supstancije koje djeluju na mikrobiom djeluju i na mozak i ponašanje jesu potencijalni psihobiotici, iako nekima od njih primarna funkcija nije vezana uz promjenu mikrobioma. Tako su na primjer i neki antipsihotici, koji su već u primjeni u terapiji shizofrenije i bipolarnog poremećaja – olanzapin, pokazali da djeluju povećavajući relativnu brojnost *Actinobacteria* i *Proteobacteria*. Određeni kokteli lijekova mogu se uvrstiti u psihobiotike jer se pokazalo da, djelujući na mikrobiom, utječu na neurokemiju mozga i ponašanje.



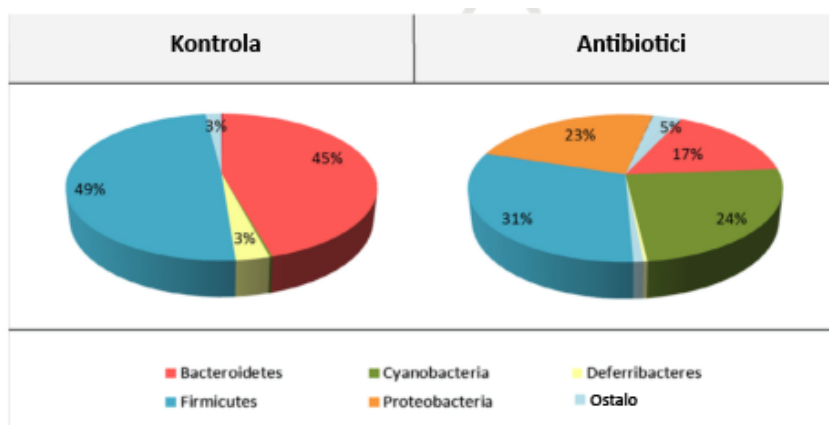
**Slika 5.** Shema utjecaja psihobiotika i raznih mehanizama kojima djeluju; plave strelice označuju procese i efekte psihobiotika na ljudski organizam, dok crvene strelice pokazuju procese povezane s crijevnom propusnošću i upalama

(Preuzeto i prilagođeno prema Sarkar i sur, 2016.)

#### 4.4. Antibiotici

Antibiotici se danas vrlo često pretjerano uzimaju, no osim što nas štite od raznih patogenih bakterija, nažalost uništavaju i one dobre. Zbog lakoće korištenja u istraživanjima, antibiotici se često upotrebljavaju za upoznavanje s funkcijama mikrobiote jer se njima može modulirati mikrobiom (Donskey i sur. 2003) (Slika 6).

Zanimljivo je da promjena mikrobiote antibioticima nije nužno loša karakteristika, već suprotno. Berick i sur. (2011) dokazali su kako oralna primjena koktela određenih antibiotika (neomicin, bacitracin i antifungalno sredstvo primaricin) može smanjiti anksiozno ponašanje kod miševa i povećati istraživačko ponašanje u testovima ponašanja. Ova saznanja dala su potencijal i antibioticima da se možda jednog dana počnu koristiti kao lijek za određena neuropsihijatrijska oboljenja.



**Slika 6.** Grafički prikaz kontrolne grupe i efekta oralnog davanja antibiotika miševima na mikrofloru crijeva izoliranu iz cekuma; prikazani su postoci određenih rodova bakterija odnosno njihova brojnost (Preuzeto i prilagođeno prema Desbonne i sur, 2015.)

#### 4.5. Prehrana

Danas sve više konzumiramo brzu i previše procesuiranu hranu zbog užurbanog načina života u velikim gradovima ne pazeći zapravo koliko je ona štetna za našu mikrofloru i zdravlje. Takva hrana uzrokuje povećanu crijevnu propusnost i simptome depresije (Sánchez-Villegas i sur. 2012). Prehrana bogata povrćem, voćem i ribom pokazuje suprotne učinke, smanjenu propusnost i antidepresivno ponašanje (Akbaraly i sur. 2009; Jacka i sur. 2010, 2011, 2014; Ruusunen i sur. 2014). Uzimanje hrane bogate mastima dokazano utječe na emocionalno stanje u ljudi i životinja i mijenja ga (Ulrich-Lai i sur. 2015) te uzrokuje pojavu zvanu “propusno crijevo” (i.e., *increased intestinal permeability*), a slična je efektu kroničnog stresa probave (Gareau i sur. 2008; Maes and Leunis 2008; Ait-Belgnaoui i sur. 2014). Taj učinak bio je popraćen i većom razinom plazmatskog i fekalnog endotoksina kao i reduciranom ekspresijom proteina čvrstog spoja kladina-1 i okcludina u debelom crijevu (Kim i sur. 2012). Izravno

povezanost načina prehrane s ponašanjem dokazao je Bruce-Keller (2015) koji je *chow-fed* miševima, čija je mikrobiota manipulirana antibioticima, transplantirao mikrobiotu miševa koji su bili tretirani visoko masnom prehranom. U miševa s transplantiranom mikrobiotom vidljivi su bili svi gore navedeni učinci, ali zanimljivo je bilo uočiti i anksiozno ponašanje (Bruce-Keller i sur. 2015). Zapadnjačka prehrana karakterizirana je rafiniranim ugljikohidratima, zasićenim  $\omega$ -6 i transmasnim kiselinama te niskim razinama  $\omega$ -3 masnih kiselina i ostalih nezasićenih dugolančanih masnih kiselina (engl. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA) u kombinaciji s malo antioksidativnih vitamina i flavonoida. To sve djeluje proupalno izazivajući razne metaboličke sindrome, pa čak i rak.

Osnovne namirnice mediteranske prehrane jesu svježe voće i povrće (smokva, šipak, grožđe, agrumi, blitva, raštika, kelj, češnjak, luk, tikvice i patlidžani, rajčica), ekstradjevičansko maslinovo ulje, orašasti plodovi, sjemenke, riba i crno vino. Masline i maslinovo ulje imaju visok sadržaj jednostruko nezasićenih masnih kiselina od kojih je najzastupljenija oleinska. Djeluju kardioprotektivno, antioksidativno i protuupalno smanjujući djelovanje IL-6 kao i TNF- $\alpha$ . Pospješuju zdravu probavu povećavajući biodiverzitet mikroflore i utječu na njenu ravnotežu (Hidalgo i sur. 2018). Istraživanjem je dokazano da se uzimanjem ekstradjevičanskog maslinova ulja povećava brojnost roda *Clostridium XIVa*, jednog od glavnih striktnih anaeroba u crijevima. Taj je rod bakterija odgovoran za produkciju butirata, jednog od glavnih metabolita koji nastaje u crijevima, a odgovoran je za smanjene ukupnog kolesterola u krvi. Sporedni spoj maslinova ulja jest i hidroksitirozol koji obnavlja mikrobiotu crijeva uništenu prehranom bogatom mastima i čuva integritet crijevne barijere (Liu i sur. 2019). Mediteranska prehrana bogata je i vlaknima koja hrane mikrobiotu crijeva.

#### 4.6. Dijagnostika

U nedavnoj metaanalizi kliničkih istraživanja za identifikaciju i procjenu dijagnostičkih testova pokazuje se kako kombinacija crijevne propusnosti prema Rome I kriteriju i fekalnom kalprotektinu omogućuju najtočnije načine predviđanja IBS-a u ljudi (Sood i sur. 2015). Primjerice IBS podtipovi podijeljeni su na temelju mikrobiomnih profila: oni s visokim omjerom *Firmicutes* vs *Bacteroidetes* imali su i jake simptome depresivnog ponašanja (Jeffery i sur. 2012b). Iako još nije dio rutine u kliničkim istraživanjima, dodatak mikrobiomnih profila mogao bi nam pružiti još bolji uvid u dijagnostici (Casen i sur. 2015).

#### 4.7. Transplantacija fekalne mikrobiote

Nedavno se pojavila i fekalna transplantacija (eng. *fecal microbiota transplantation*, FMT) kao moguća terapija za mnoge zdravstvene poremećaje. Iako je još nedovoljno istražena na ljudima, sve je više dokaza iz pretkliničkih istraživanja na životinjskim modelima koja podržavaju FMT kao moguću metodu liječenja pacijenata s Parkinsonovom bolesti, multiplom sklerozom, poremećajima autističnog spektra (Xu i sur. 2015) i dijabetesom. Takva se terapija pokazala kao vrlo učinkovita metoda u liječenju upala izazvanih *Clostridium difficile* (Drekonja i sur. 2015). Berick je sa svojim suradnicima (2011) radio transplantacije mikrobiote između sojeva GF miševa. Zabilježio je smanjeno anksiozno ponašanje kod BALB/c soja nakon što su im transplantirali mikrobiotu NIH Swiss miševa (Berick i sur. 2011). Ovakva istraživanja na GF modelima i potpuna manipulacija crijevnih bakterija znanstvenicima uvelike pruža bolji uvid u moguće mehanizme kojima mikrobiom komunicira s mozgom i utječe na ponašanje.

## 5. LITERATURA

- Bercik P., Denou E., Collins J., Jackson W., Lu J., Jury J., Deng Y., Blennerhassett P., Marci J., McCoy K. D., Verdu E. F., Collins S. M., 2011. The intestinal microbiota affect central levels of brain – derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* **141(2)**, 599-609.
- Burokas A., Arboleya S., Moloney R. D., Peterson V. L., Murphy K., Clarke G., Stanton C., Dinan T G., Cryan J. F., 2017. Targeting the Microbiota – Gut – Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant – like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biological psychiatry* **82(7)**, 472-487.
- Costantini L., Molinari R., Farinon B., Merendino N., 2017. Impact of Omega – 3 Fatty Acids on the Gut Microbiota. *International journal of molecular sciences* **18(12)**, 1-23.
- Cryan J. F., Dinan T. G., 2012. Mind – altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature reviews. Neuroscience* **13(10)**, 701-712.
- Dinan T. G., Cryan J. F., 2012. Regulation of the stress response by the gut microbiota: implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology* **37(9)**, 1369-1378.
- Dinan T. G., Borre Y. E., Cryan J. F., 2014. Genomics of schizophrenia: time to consider the gut microbiome? *Molecular psychiatry* **19(12)**, 1252-1257.
- Dinan T. G., Stilling R. M., Stanton C., Cryan J. F., 2015. Collective unconscious. How gut microbes shape human behavior. *Journal of psychiatric research* **63**, 1-9.
- Feng P., Ye Z., Kakade A., Virk A. K., Li X., Liu P., 2018. A Review on Gut Remediation of Selected Environmental Contaminants: Possible Roles of Probiotics and Gut Microbiota. *Nutrients* **11(1)**, 1-19.
- Forsythe P., Sudo N., Dinan T., Taylor V. H., Bienenstock J., 2010. Mood and gut feelings. *Brain, behavior, and immunity* **24(1)**, 9-16.
- Foster J. A., McVey Neufeld K. A., 2013. Gut – brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences* **36**, 305-311.



- Foster J. A., Rinaman L., Cryan J. F., 2017. Stress and the gut – brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiology of stress* **7**, 1-13.
- de la Fuente – Nunez C., Meneguetti B. T., Franco O. L., Lu T. K., 2018. Neuromicrobiology: How Microbes Influence the Brain. *ACS chemical neuroscience* **9(2)**, 141-150.
- Gareau M. G., 2016. Cognitive Function and the Microbiome. *International review of neurobiology* **131**, 227-246.
- Gonzalez A., Stombaugh J., Lozupone C., Turnbaugh P. J., Gordon J. I., Knight R., 2011. The mind – body – microbial continuum. *Dialogues in clinical neuroscience* **13(1)**, 55-62.
- 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**, 1-20.
- Kelly J. R., Keane V. O., Cryan J. F., Clarke G., Dinan T. G., 2019. Mood and Microbes: Gut to Brain Communication in Depression. *Gastroenterology clinics of North America* **48(3)**, 389-405.
- Mano F., Ikeda K., Joo E., Fujita Y., Yamane S., Harada N., Inagaki N., 2018. The Effect of White Rice and White Bread as Staple Foods on Gut Microbiota and Host Metabolism. *Nutrients* **10(9)**, 1-10.
- Marcelino G., Hiane P. A., Freitas K. C., Santana L. F., Pott A., Donadon J. R., Guimaraes R. C. A., 2019. Effects of Olive Oil and Its Minor Components on Cardiovascular Diseases, Inflammation, and Gut Microbiota. *Nutrients* **11(8)**, 1-14.
- Parker A., Fonseca S., Carding S. R., 2019. Gut microbes and metabolites as modulators of blood – brain barrier integrity and brain health. *Gut microbes*, 1-23.
- Petra A. I., Panagiotidou S., Hatziagelaki E., Stewart J. M., Conti P., Theoharides T. C., 2015. Gut – Microbiota – Brain Axis and Its Effect on Neuropsychiatric Disorders With Suspected Immune Dysregulation. *Clinical therapeutics* **37(5)**, 984-995.
- Pray L., Pillsbury L., Tomayko E., 2013. The Human Microbiome, Diet, and Health: Workshop Summary. *The National Academies Press (US)*

- Prescott S. L., Millstein R. A., Katzman M. A., Logan A. C., 2016. Biodiversity, the Human Microbiome and Mental Health: Moving toward a New Clinical Ecology for the 21st Century? *International Journal of Biodiversity*, 1-18.
- Rea K., Dinan T. G., 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., Campbell S. C., 2017. Microbes and mental health: A review. *Brain, behavior, and immunity* **66**, 9-17.
- Sarkar A., Lehto S. M., Harty S., Dinan T. G., Cryan J F., Burnet P. W J., 2016. Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria – Gut – Brain Signals. *Trends in neuroscience* **39(11)**, 763-781.
- Zheng P., Zeng B., Zhou C., Liu M., Fang Z., Xu X., Zeng L., Chen J., Fan S., Du X., Zhang X., Yang D., Yang Y., Meng H., Li W., Melgiri N. D., Licinio J., Wei H., Xie P., 2016. Gut microbiome remodeling induces depressive – like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism. *Molecular psychiatry* **21(6)**, 786-796.

## 6. SAŽETAK

Posljednjih godina brojni su dokazi ukazivali na središnju ulogu komenzalnih bakterija koje koloniziraju tjelesne površine kao ključne odrednice zdravih ili patoloških stanja. Svaki je pojedinac naslijedio specifičnu mikrobiotu crijeva od svog rođenja, a njegova se crijevna mikrobiota razvija i mijenja sa starenjem, prehranom i izlaganjem heterogenom okolišu. Sve je veća pažnja posvećena prema karakterizaciji sastava i funkcionalnosti mikrobiote probavnog sustava, te njenog utjecaja na homeostazu domaćina. Danas su istraživanja usmjerena i na proučavanje HPA veze, koja je odgovorna na reagiranje tijela u stresnim uvjetima, i crijevne mikroflore te je dokazano da mikrobiota ima veliku ulogu u regulaciji normalnog ponašanja domaćina ali i ulogu u regulaciji kemije u mozgu koja je bitna kod raspoloženja i nekih neuropsihijatrijskih bolesti. Također, mikrobiota u crijevima obavlja brojne vitalne funkcije uključujući proizvodnju vitamina, metabolizam prehrambenih spojeva, zaštitu od širenja i sistemske infiltracije crijevnih patogena. Mikrobna ravnoteža u crijevima ima ključnu ulogu u pravilnom izvršavanju svih ovih ključnih metaboličkih funkcija. Svaka neravnoteža u ovoj osjetljivoj ravnoteži kao i u BGM osi može dovesti do oštećenja mikrobiote, stanja zvanog disbioza, koje je povezano s nekoliko ljudskih patologija, poput depresije, anksioznosti, autizma, alzheimera i parkinsonove bolesti. S druge strane, mnogi probiotici mogu zaštititi domaćina, ponovno uspostavljajući uvjete zdrave crijevne mikrobiote kod bolesnika s disbiozom uključujući bolesnike koji pate od nekih neuropsihijatrijskih poremećaja. U budućnosti, dizajn novih psihobiotika može zahtijevati personalizirani integrirani pristup uzimajući u obzir specifičnu kliničku i patološku pozadinu svakog pojedinog pacijenta koji se liječi, kako bi se postigli samo pozitivni ishodi primjene probiotika i/ili fekalne transplantacije po mogućnosti bez štetnih nuspojava.

## 7. SUMMARY

In recent years, numerous evidence has shown the central role of commensal bacteria that colonize body surfaces, as key determinant of healthy or pathological conditions. Each person has inherited a specific intestinal microbiota, which evolves and changes with aging, diet and exposure to heterogeneous environment. Increased attention has been paid to the composition characterization and functionality of gut microbiota and its impact on host homeostasis. Today, researches are focused on the study of the HPA axis also, which is responsible for body's response to stressful situations, and on the study of the intestinal microflora. It has been proved that the gut microbiota has an important role in the regulation of normal host behavior, but also in the regulation of brain chemistry, which is important for mood and some neuropsychiatric diseases. Moreover, the intestinal microbiota performs many vital functions, including the production of vitamins, metabolism of nutritional compounds, protection against spreading and systemic infiltration of intestinal pathogens. Microbial balance in the intestine has a key role in the proper performance of all these key metabolic functions. Any imbalance in this delicate balance, as well as in the BGM axis, can lead to damage of microbiota, a condition called dysbiosis, which is associated with several human pathologies, such as depression, anxiety, autism, Alzheimer's and Parkinson's disease. On the other hand, many probiotics can protect the host, reestablishing healthy conditions in the intestinal microbiota of patients with dysbiosis, including patients who suffer from some neuropsychiatric disorders. In the future, the design of new psychobiotics may require a personalized integrated approach, taking into account the specific clinical and pathological background of each treated patient, in order to achieve only positive outcomes of probiotic application and/or fecal transplantation, preferably without adverse side effects.