

## OD WIELKIEJ GENETYKI DO NEUROPSYCHOLOGII – ZARYS HISTORII BADAŃ NAD POWIĄZANIEM MIKROBIOMU Z ZACHOWANIEM CZŁOWIEKA

Dominik Czajeczny\*, Karolina Kabzińska, Rafał Wojciech Wójciak

Katedra i Zakład Psychologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Wpłynęło w sierpniu, zaakceptowano w grudniu 2019 r.

**Streszczenie:** Po sukcesie Projektu Poznania Genomu Ludzkiego, w wyniku którego oszacowano liczbę genów u człowieka na jedynie 30–40 tysięcy, badacze skierowali swoją uwagę na ogromną pulę dodatkowych genów obecnych w ciele i na powierzchni ciała człowieka. Same tylko jelita są siedliskiem dla nawet 1000 szczepów bakterii i innych mikroorganizmów. Mikroorganizmy współzyczące z człowiekiem dostarczają pulę 2–4 milionów dodatkowych genów. W 2009 roku postawiono hipotezę mówiącą, że zmiany kompozycji mikrobiomu wychwytywane są przez neurony zlokalizowane na całej długości jelita i komunikowane do mózgu, tworząc tzw. oś mózgowo-jelitową, której głównym szlakiem jest nerw błędny. Poza wpływem na funkcjonowanie układu trawienno i odpornościowego, pierwsze badania prowadzone w obszarze neuropsychologii wskazują, że mikrobiom jelitowy powiązany jest także z funkcjonowaniem osi HPA, a przez to z regulacją pobudzenia i emocji. Badania sugerują także związek z funkcjonowaniem poznawczym. Jak na razie, mechanizmy tych oddziaływań pozostają w dużej mierze nieznane. Historia badań nad mikrobiomem człowieka obrazuje złożoną naturę naszego funkcjonowania i potrzebę integrowania wiedzy pochodzącej z dziedzin, na pierwszy rzut oka, bardzo odległych, jak mikrobiologia i psychologia. Dopóki związki pomiędzy człowiekiem a jego mikrobiomem nie zostaną poznane, nasza wiedza o ludzkiej biologii i zachowaniu będzie niekompletna.

1. Projekt Poznania Ludzkiego Genomu. 2. W poszukiwaniu brakujących genów. 3. Projekt Poznania Ludzkiego Mikrobiomu. 4. Poszukiwanie struktury w nieskończoności. 5. Oś mózgowo-jelitowa, w kierunku neuropsychologii. 6. Podsumowanie

### FROM GREAT GENETICS TO NEUROPSYCHOLOGY – OUTLINE OF THE RESEARCH ON THE ASSOCIATION BETWEEN MICROBIOTA AND HUMAN BEHAVIOUR

**Abstract:** After the success of the Human Genome Project, which led to estimating the number of human genes at only about 30–40 thousand, researchers started paying attention to a great number of genes present inside and on the surface of the human body. The gastrointestinal tract alone is a habitat for up to 1000 species of bacteria and other microorganisms. These microorganisms add a pool of 2–4 million additional genes. In 2009, a hypothesis was proposed that changes in microbiota are sensed by neurons localized along the entire bowel length, and communicated to the brain, making up the gut-brain axis. The vagus nerve seems to serve as the main communication path. Besides affecting gastrointestinal tract functions, primary neuropsychological studies show that gut microbiota is linked to HPA activity, and thus with arousal regulation and emotional functions. Research also suggests a link to cognitive functions. For now, mechanisms of those connections remain, for the most part, unknown. History of the research on human microbiota shows a complex nature of human functions and the need for integration of knowledge from, as it may seem, distant branches of science, like microbiology and psychology. While connections between microbiota and host organism remain unrecognized, our knowledge of human biology will be incomplete.

1. Human Genome Project. 2. In search for the missing genes. 3. Human Microbiome Project. 4. In search for the structure in infinity. 5. Gut-brain axis, towards neuropsychology. 6. Conclusions

**Słowa kluczowe:** genom człowieka, mikrobiom jelitowy, psychologia

**Key words:** human genome, gut microbiota, psychology

### 1. Projekt Poznania Ludzkiego Genomu

Gwałtowny rozwój badań nad mikroorganizmami zasiedlającymi przewód pokarmowy człowieka i jego znaczeniem dla całego organizmu jak też zachowania, związany był w dużej mierze z opublikowaniem pierwszej kompletnej sekwencji genomu ludzkiego.

W 1964 roku, Vogel [74] opublikował pracę, w której zawarł obliczenia szacujące liczbę genów u człowieka. Bazując na ówczesnej wiedzy i czyniąc szereg założeń, uzyskał liczbę rzędu 6,7 miliona genów. Nawet

wówczas, badacz ten uznał tę liczbę za „niepokojąco wysoką”. Wtedy nie było jeszcze wiadomo, że między genami kodującymi białka znajdują się liczne sekwencje niekodujące (introny), jak też – powtarzające się, tworzone przez liczne mutacje punktowe, sekwencje – tzw. nonsensowne [60]. Korzystając z coraz bardziej zaawansowanych narzędzi molekularnych, kolejni naukowcy podejmowali się szacowania liczby genów człowieka [1, 6, 26, 28]. Wyniki tych szacunków przynosiły coraz niższe liczby. Raport opublikowany w 1990 roku przez National Institutes of Health (NIH) oraz Department of

\* Autor korespondencyjny: Dominik Czajeczny, Katedra i Zakład Psychologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Bukowska 70, 60-812 Poznań; e-mail: d.czajeczny@gmail.com

Energy (DE) [3] zawierał już szacunkową liczbę genów wynoszącą około 100 000. W 2000 roku praca Ewinga z zespołem [26] przewidywała istnienie 35 000 genów kodujących białka w genomie człowieka. Spodziewano się, że dokładną liczbę genów pozwoli ustalić dopiero wykonanie pełnej sekwencji genomu. To wymagało jednak powołania projektu naukowego na niespotykaną do tamtej pory skalę.

Jak opisał Collins z zespołem [19], pierwsze poważne dyskusje na temat możliwości ustalenia pełnej sekwencji ludzkiego genomu zostały zainicjowane w 1985 roku przez kanclerza Uniwersytetu Kalifornijskiego w Santa Cruz – Roberta Sinsheimera. Naukowcy podają w artykule [19], że większość środowisk naukowych uznało wtedy pomysł za szalony, lub w najlepszym wypadku – przedwczesny. Projekt nabrał tempa, kiedy kierownictwo przejął James D. Watson, laureat Nagrody Nobla z 1962 roku, którą przyznano mu za opisanie struktury DNA.

W 1986 roku, DeLisi z amerykańskiego DE zdecydował o rozpoczęciu finansowania badań nad sekwencjonowaniem i mapowaniem DNA człowieka [19]. W 1988 roku U.S. National Research Council of the U.S. National Academy of Sciences rekomendowała powołanie Human Genome Project (HGP), wnioskując o finansowanie wynoszące około 200 milionów dolarów rocznie. Projekt miał trwać 15 lat [19]. W 1990 roku Kongres utworzył budżet dla HGP i wyznaczył termin realizacji na rok 2005. W październiku 1989 roku, kilka tysięcy naukowców różnych specjalizacji zgromadziło się w San Diego, na konferencji „Human Genome 1” [29]. Oficjalne rozpoczęcie projektu związane było z opublikowaniem w 1990 manifestu Jamesa D. Watsona, który ukazał się w czasopiśmie *Science* [77]. Projekt stanął pod znakiem zapytania w 1998 roku. W dniu 9 maja, spółka Perkin-Elmer, będąca właścicielem Applied Biosystems – największego producenta sprzętu laboratoryjnego i odczynników do sekwencjonowania DNA, ogłosiła plan zsekwencjonowania ludzkiego genomu z wykorzystaniem prywatnego finansowania [58]. Jak opisywał Olson [58], na czele projektu miał stanąć biolog molekularny – Craig Venter. Nowe przedsięwzięcie nazwano Celera (nazwa wywiedziona została od łacińskiego słowa *accelerātiō*, oznaczającego przyspieszenie). Spółka twierdziła, że jest w posiadaniu technologii umożliwiającej zrealizowanie celu w okresie 3 lat, przy ułamku HGP i przy utrzymaniu rygorystycznej kontroli jakości. Wynik miał zostać upubliczniony, z wyjątkiem „skromnej liczby” sekwencji, które zostałyby opatentowane. Jeśli zapowiedzi okazałyby się prawdziwe, zasadność dalszego publicznego finansowania HGP stanęłaby pod znakiem zapytania. Agresywna kampania medialna Craiga Ventera tworzyła narrację o „naukowcu – indywidualiście, który występuje przeciwko zabetonowanemu układowi pozabawionemu wyobraźni”.

Subcommittee on Energy and Environment of the Committee on Science of the U.S. House of Representatives zorganizował 17 czerwca 1998 przesłuchanie [72], mające na celu zweryfikować, czy Celera jest projektem uzupełniającym wobec HGP, czy też może potencjalnie sprawić, że ten drugi okaże się zbyteczny [58]. Po przesłuchaniach, Francis Collins, dyrektor National Human Genome Research Institute of the National Institutes of Health, wydał oświadczenie mówiące, że zapewnienia Ventera o upublicznieniu sekwencji przez Celera Corporation nie są dla spółki w żaden sposób wiążące, dlatego też jedyną drogą zapewnienia publicznego dostępu do sekwencji ludzkiego genomu jest kontynuowanie prac publicznego projektu. Wypowiedź tę określono później jako proroczą [58]. Według Olsona [58], 3 lata później żadne sekwencje odczytane przez przedsięwzięcie Ventera nie zostały opublikowane w banku genów.

Jak pisze Collins z zespołem [19], wielu pobocznych obserwatorów podnosiło głos, że właściwym rozwiązaniem jest poszukiwanie możliwości współpracy między dwoma przedsięwzięciami. Wielokrotnie podejmowane próby połączenia wysiłków, jednak żadna nie była zwieńczona sukcesem. Mimo, że współpraca okazała się niemożliwa, dzięki negocjacjom, w których brał udział m.in. Aristides Patrinos, dyrektor Office of Biological and Environmental Research in the U.S. Department of Energy [19], uzgodniono, że wyniki prac obu zespołów zostaną opublikowane jednocześnie. Jako datę publikacji wybrano luty 2001 roku.

Po 11 latach od rozpoczęcia HGP i zaledwie 3 latach od rozpoczęcia prywatnej inicjatywy Ventera, opublikowana została pierwsza pełna sekwencja genomu człowieka. Pierwszy z zespołów opublikował efekty międzynarodowej współpracy w czasopiśmie *Nature* [42], drugi – w *Science* [73]. Obie prace okazały się wzajemnie uzupełniać swoje wyniki. Sukces pierwszej poważnej próby wejścia w „wielką naukę” zachęcił badaczy do podejmowania kolejnych projektów na tak dużą skalę [19].

## 2. W poszukiwaniu brakujących genów

Od lat 60. XX wieku, do początku XXI wieku, szacowana przez naukowców liczba genów człowieka systematycznie się zmniejszała [60]. Zespół HGP, którym kierował Watson, oszacował liczbę ludzkich genów kodujących białka na 30 000–40 000 [42]. Zespół kierowany przez Ventera [73] argumentował, że liczba genów u człowieka może być nawet niższa niż 30 000. Analizy wykonane przez Celera Corporation sugerowały istnienie 26 588 genów podpartych mocnymi dowodami, oraz przewidywały istnienie około 12 000 dodatkowych, podpartych słabszymi dowodami. Liczby te były zdecydowanie niższe niż szacunki, które publikowano przed wykonaniem sekwencji genomu człowieka [1, 6, 26, 28].

Wiadomość, że zwiększenie liczby genów o 1/3 może wystarczyć, aby prosty nicien (*Caenorhabditis elegans*, posiadający około 20 000 genów [20]), rozwinął się do poziomu człowieka, spowodowała ożywioną debatę w środowiskach naukowych [18]. Jean Michel-Claviere argumentował [18], że tzw. paradoks N-value (brak związku między masą posiadanego DNA oraz liczbą genów, a intuicyjną złożonością organizmu) wynika z niejasnego definiowania przez różnych badaczy złożoności organizmu. Claviere podaje, że odpowiadając na pytanie o złożoność organizmu, część badaczy z jego laboratorium przyjmowała za kryterium różnorodność komórkową, inni – złożoność układu nerwowego, jeszcze inni uwzględniali kulturowe osiągnięcia człowieka. W związku z tym, liczba 30 000 genów nie była dla wszystkich zaskoczeniem.

Jednak jeszcze przed zakończeniem HGP, Davies [22] argumentował, że opisywanie jego rezultatów jako „przepisu na stworzenie człowieka” jest przesadne. Zwrócił uwagę, że nasze istnienie jest zależne od czegoś więcej niż około 30 000 genów, które udało się odczytać. Powierzchnia ciała oraz także jego wnętrze są siedliskiem dla nawet 1000 szczepów bakterii i innych mikroorganizmów. Dostarczają one dodatkową pulę 2 do 4 milionów genów, które w większości nie zostały scharakteryzowane. To aż do 150 razy więcej, niż zawiera genom człowieka. Zdaniem Daviesa, dopóki związku pomiędzy człowiekiem a jego mikrobiomem nie zostaną poznane, nasza wiedza o ludzkiej biologii będzie niekompletna.

Już w 1985 roku, mikroekolodzy Stanley i Konopka [67] zwrócili uwagę, że obserwacje mikroskopowe mikroorganizmów pozyskanych z przewodu pokarmowego pozwalają na ukazanie znacznie większej złożoności mikrobiomu jelitowego, niż obrazował tradycyjny pogląd, ukształtowany z wykorzystaniem badań posiewowych, skupiających się na pojedynczych mikroorganizmach. Ograniczeniem tego drugiego podejścia były trudności z hodowlą wielu mikroorganizmów. Obecnie szacuje się, że nie jesteśmy w stanie hodować od 20% do nawet 80% mikroorganizmów zasiedlających ciało człowieka [25, 36]. Niesie to ze sobą ryzyko niedoszacowania znaczenia i złożoności mikroorganizmów wchodzących w skład mikrobiomu.

Obserwacja Stanleya i Konopki dała początek badaniom mającym na celu opisanie złożoności struktury i interakcji kolonii, które zasiedlają jelita [47]. Dopiero jednak pojawienie się nowoczesnych narzędzi metagenomiki, umożliwiającej badanie genów uzyskanych bezpośrednio ze środowiska, zapoczątkowało kompleksowe prace nad próbą zrozumienia mikrobów współistniejących z człowiekiem [36, 59]. Pojęcie „mikrobiom”, do określenia ekologicznej społeczności wszystkich mikroorganizmów, które dzielą naszą przestrzeń życiową, po raz pierwszy użył w 2001 roku Joshua Lederberg [44].

### 3. Projekt Poznania Ludzkiego Mikrobiomu

Podczas międzynarodowego spotkania naukowego, które odbyło się w Paryżu, w listopadzie 2005 roku, przedstawiono rekomendację utworzenia Human Intestinal Metagenome Initiative (HIMI) [55]. Celem projektu miało być bardziej kompletne niż dotychczas zdefiniowanie mikrobiomu jelitowego w zdrowiu i chorobie. Jelita są największą niszą w organizmie człowieka, w której bytują mikroorganizmy, oraz stanowią największą powierzchnią kontaktu ciała z otoczeniem [49], stąd też decyzja o rozpoczęciu badań właśnie od tej lokalizacji [55]. Rekomendowano także połączenie wysiłków zespołów z różnych ośrodków badawczych i utworzenie International Human Microbiome Consortium, które zajmie się gromadzeniem wyników z laboratoriów w różnych krajach. W wyniku ustaleń poczynionych w toku paryskiego spotkania powołano także Human Microbiome Project (HMP), w ramach NIH Roadmap for Biomedical Research. Celem programu było szerokie zbadanie mikrobiomu pobranego z co najmniej 4 lokalizacji ciała (przewodu pokarmowego, ust, pochwy oraz skóry) [55]. Koszt projektu oszacowano na 150 mln dolarów [12], a środki miały pochodzić z budżetu NIH [55].

W 2007 roku, Turnbaugh z zespołem [71] opublikowali w czasopiśmie *Nature* założenia HMP, określając projekt jako logiczne następstwo HGP. Według nich, HMP wynikał z uznania faktu, że człowiek jest częścią bardziej złożonego organizmu (superorganism), w skład którego wchodzi komórki somatyczne człowieka, oraz komórki mikroorganizmów zasiedlających jego ciało. Szacuje się, że te drugie swoją liczebnością 10-krotnie przewyższają komórki ludzkie [71]. HMP miało na celu opisanie tego, jak mikrobiom przyczynia się do funkcjonowania organizmu człowieka, jego normalnej fizjologii oraz stanów chorobowych.

W 2010 roku, opublikowano wyniki projektu Meta-HIT (Metagenomics of the Human Intestinal Tract) [61], finansowanego przez Komisję Europejską. Zespół kierowany przez Qin'a wykonał metagenomowe sekwencjonowanie próbek kału pobranych od 124 uczestników z Europy. Do badania włączono osoby o normalnym BMI (body-mass index), z nadwagą i otyłością, a także osoby z nieswoistym zapaleniem jelit. Pozy-skano 3,3 miliona unikalnych genów, wyodrębnionych z sekwencji zawierających łącznie 576,7 miliardów zasad. Znaczna część genów okazała się być wspólna dla osób, od których pobrano próbki. Około 40% genów pochodzących od każdego uczestnika została odnaleziona u przynajmniej połowy pozostałych badanych. Ponad 99% genomu pochodziło od bakterii, sugerując obecność ponad 1000 szczepów. Resztę stanowiły głównie archeony. Tylko około 0,1% genów było pochodzenia eukariotycznego i wirusowego.

Według hipotezy zaproponowanej przez Gonzaleza i wsp. [32], mikrobiom jelitowy jest łącznikiem pomiędzy naszym wyposażeniem genetycznym a historią ekspozycji środowiskowych. Nowe metody sekwencjonowania DNA, które pojawiły się na początku XXI wieku, pozwoliły na opisanie funkcji, jakie mikrobiom pełni w funkcjonowaniu człowieka. Poza oddziaływaniem lokalnym, w obrębie przewodu pokarmowego, mikrobiom wpływa także na szereg procesów zachodzących w ciele człowieka. Mikrobiom jelitowy bierze udział w metabolizmie nierozkładanych przez człowieka związków, jak np. wielocukrów, niektórych aminokwasów i ksenobiotyków, biosyntezie witamin i isoprenoidów [12], oraz modyfikuje wchłanianie składników mineralnych z pokarmu [66]. Wykazano powiązania mikrobów bytujących w jelitach z otyłością o chorobami metabolicznymi, jak np. cukrzyca typu drugiego [17, 70]. Mikrobiom jelitowy pełni funkcje ochronne przed patogenami, konkurując o składniki odżywcze i nisze, w których mogłyby się osiedlać szkodliwe dla człowieka mikroorganizmy [40]. Bierze udział w dojrzewaniu układu odpornościowego, może także inicjować lub modyfikować odpowiedź immunologiczną organizmu [40, 47]. Najnowsze badania dostarczają także dowodów na powiązania mikrobiomu jelitowego z funkcjonowaniem ośrodkowego układu nerwowego OUN, a przez to z fenotypem zachowania: funkcjonowaniem poznawczym, osobowością, nastrojem, snem oraz zachowaniami związanymi z odżywianiem [32]. Zmiany składu mikrobiomu jelitowego obserwowane są nie tylko w zaburzeniach przewodu pokarmowego [8, 54], ale także w zaburzeniach psychicznych [76], w tym zaburzeniach nastroju, a także w innych zaburzeniach związanych z obniżeniem funkcjonowania poznawczego, jak np. encefalopatia cukrzycowa [80] i choroba Alzheimera [38]. Do opisywania tych zależności poszukiwano odpowiedniej ramy teoretycznej, która ułatwiałaby analizy i interpretację wyników.

#### 4. Poszukiwanie struktury w nieskończoności

Każdy człowiek posiada unikalną kompozycję mikrobiomu, która rozwija się i zmienia w trakcie życia, jednocześnie pozostając względnie stabilną [50, 82]. Postęp w poszukiwaniu cech wspólnych mikrobiomu (czy też "rdzennego mikrobiomu") nastąpił wraz z opublikowaniem w 2011 roku, w czasopiśmie *Nature*, koncepcji enterotypów [7].

Zespół kierowany przez Arumugama [7], z próbek kału pobranych od uczestników z 4 różnych krajów, wykonał 22 sekwencjonowania metagenomowe. Do analiz włączono także opublikowane wcześniej metagenomy. Razem pozyskano 39 próbek. Pozwoliło to na zidentyfikowanie w zebranych danych 3 klastrow,

które określono mianem enterotypów. Każdy z nich charakteryzuje się dominacją jednego z rodzajów bakterii: *Bacterioides*, *Prevotella* lub *Ruminococcus*. Zespół zidentyfikował także identyczne klastry w 2 opublikowanych wcześniej kohortach. Arumugam z zespołem [7] argumentowali, że ich odkrycie przemawia za istnieniem ograniczonej liczby prawidłowo funkcjonujących stanów mikrobiomu oraz za dyskretną, a nie ciągłą, charakterystyką kompozycji mikrobiomu. We wspomnianym badaniu, enterotypy okazały się być niezależne od indywidualnych zmiennych, jak płeć, wiek czy BMI. Mimo tego, udało się zidentyfikować geny istotnie skorelowane z wyżej wymienionymi zmiennymi, co może wskazywać na diagnostyczną użyteczność markerów mikrobowych. Zespół podkreślił jednak, że analiza strukturalna nie dostarcza zbyt wielu informacji o funkcjach, które pełni mikrobiom.

Głosy krytyki pojawiły się bardzo szybko. W tym samym, 2011 roku, zespół kierowany przez Wu [79] opublikował badanie, w którym udało się zidentyfikować tylko dwa enterotypy, zdominowane przez bakterie rodzaju *Bacterioides* i *Prevotella*. Dodatkowo, dane sugerowały, że są one powiązane z dietą osób, od których pobrano próbki do analiz. Dieta bogata w białko związana była z enterotypem *Bacterioides*, dieta bogata w węglowodany współwystępowała z enterotypem *Prevotella*.

Sam Arumugam przedstawił 20 marca 2012 roku, na Międzynarodowym Kongresie Ludzkiego Mikrobiomu w Paryżu [81], nowe dane sugerujące, że granice między enterotypami mogą nie być tak wyraźne, jak sugerowały pierwsze badania. Zespół, który opublikował oryginalną pracę przedstawiającą koncepcję enterotypów, powtórzył analizy na znacznie większej grupie składającej się z 663 osób z Danii i Hiszpanii. Z danych wynikało, że bakterie rodzaju *Methanobrevibacter* wchodzi w skład enterotypu zdominowanego przez rodzaj *Ruminococcus*, a granica między tym klastrem, a enterotypem zdominowanym przez *Bacterioides* nie jest tak wyraźna. Granica między wyżej wymienionymi a trzecim enterotypem – zdominowanym przez rodzaj *Prevotella*, nadal pozostała wyraźnie zarysowana. Podczas konferencji głos w sprawie zabrał także Dan Knights [81]. Argumentował, że enterotypy mogą zupełnie nie istnieć. Jego badanie, przeprowadzone na próbkach pobranych od ponad 1200 osób, obrazowało kontinuum kolonii, rozciągające się od dominacji rodzaju *Bacterioides*, do dominacji rodzaju *Prevotella*. Według Knightsa, stwierdzenie, że kolonie bakterii jelitowych tworzą wyraźne klastry jest zbyt mocne i nie ma solidnych dowodów przemawiających za nim. Argumentował, że enterotypy nie są dyskretne, jak np. grupy krwi, a raczej tworzą pewne gradienty. Podobne argumenty pojawiały się także ze strony innych zespołów [39, 81]. W 2014 roku Knights [41] argumentował także, że chociaż dyskusja o tym, czy enterotypy mają charakterystykę dyskretną, czy

też ciągłą, mogą wydawać się nieistotna, to określenie struktury mikrobiomu ma ogromne znaczenia dla formułowania pytań badawczych i wybierania metod, które pozwolą zrozumieć złożoność i zmienność mikrobiomu jelitowego człowieka.

## 5. Oś mózgowo-jelitowa, w kierunku neuropsychologii

Na całej długości jelita znajduje się  $10^8$  neuronów różnych typów, tworzących złożone łuki odruchowe, które regulują funkcjonowanie jelit. Razem określone są mianem jelitowego układu nerwowego (enteric nervous system, ENS) [33]. Układ ten jest przedmiotem badań od dawna, a jego struktura i funkcje w obrębie przewodu pokarmowego zostały dość dobrze opisane [27, 33].

Dinan z zespołem [24] wprowadzili w 2013 roku termin „psychobiotyk”, definiując go jako żywy organizm, który spożywany w adekwatnej ilości przyczynia się do poprawy zdrowia pacjentów z zaburzeniami psychicznymi. Bakterie z rodzaju *Bifidobacterium* wykazują zdolność hamowania reakcji zapalnych [62], oraz przywracają balans pomiędzy pro- i przeciwzapalnymi cytokinami u pacjentów z zespołem jelita drażliwego [56]. Zdolność probiotyków do wpływania na stany psychiczne wydaje się jednak wykraczać poza dobrze opisany wpływ na szlaki zapalne [48]. Probiotyki wpływają na aktywność osi podwzgórze – przysadka – nadnercza (HPA), wykazując działanie hamujące wobec uwalniania kortyzolu [23]. W badaniach na szczurach wykazano, że terapia probiotykami reguluje aktywność osi HPA w odpowiedzi na stres, poprzez obniżenie poziomu kortykosteronu, hormonu adrenokortykotropowego, oraz ekspresji czynnika uwalniającego kortykotropinę w podwzgórze [2]. Badania Sudo z zespołem [69] sugerują, że ekspozycja na bakterie probiotyczne na wczesnym etapie rozwoju jest niezbędna do prawidłowego rozwoju i funkcjonowania osi HPA. Probiotyki mogą wpływać na stan psychiczny poprzez zwiększanie dostępności tryptofanu (prekursora serotoniny), zwiększanie syntezy serotoniny oraz redukcję jej metabolizmu [23, 46]. Mają zdolność produkowania neuroaktywnych związków, takich jak m.in. kwas gamma-aminomasłowy (GABA), serotonina, katecholaminy oraz acetylocholina [75].

Bakterie probiotyczne mają zdolność modulowania przepuszczalności jelita [2, 53], oraz bariery krew-mózg [13]. Stres jest jednym z czynników zwiększających przepuszczalność jelita, co umożliwia transfer komensalnych, Gram-ujemnych bakterii oraz fragmentów częściowo przetrawionego jedzenia i może uruchamiać systemowe reakcje zapalne [5, 78]. W badaniach Bailey'a z zespołem [9], przeprowadzonych na myszach, wykazano zmniejszenie liczebności bakterii rodzaju *Bacteroides*, oraz zwiększenie liczebności bakterii rodzaju

*Clostridium* po ekspozycji zwierząt na stres. Obserwowane zmiany były najwyraźniejsze, kiedy struktura mikrobiomu oceniana była bezpośrednio po ekspozycji. Czynnikiem uruchamiającym reakcję zapalną jest m.in. transfer lipopolisacharydów (LPS) [4], będących częścią ściany komórkowej Gram-ujemnych bakterii. LPS aktywują kompleks toll-podobnych receptorów (TLR2/4)-CD14 biorących udział w inicjowaniu reakcji zapalnej [4]. Wykazano wpływ LPS na aktywację obszarów centralnego układu nerwowego związanych z kontrolą emocjonalną, w szczególności ciała migdałowatego [34]. Badania Maes [51] z zespołem sugerują, że transfer Gram-ujemnych bakterii stymuluje uwalnianie immunoglobulin typu A oraz M, których podwyższony poziom obserwuje się w surowicy pacjentów z depresją. Uzyskane przez nich wyniki wskazują, że zwiększona przepuszczalność jelita może być zarówno czynnikiem wyzwalającym depresję u podatnych osób, jak i może przyczyniać się do utrwalania pierwotnej reakcji zapalnej związanej z występowaniem depresji. Zmiany w układzie odpornościowym i powiązanych systemach związane są z etiologią, patofizjologią i współwystępowalnością zaburzeń psychiatrycznych, w tym depresji, schizofrenii oraz choroby afektywnej dwubiegunowej [35, 43]. Zwiększona przepuszczalność jelita wiązana jest również z zaburzeniami, takimi jak choroba Alzheimera [38], choroba Parkinsona [4], zaburzenia ze spektrum autystycznego [21], zespół przewlekłego zmęczenia [52], oraz depresja i zaburzenia lękowe [30]. Zdolność probiotyków do zmniejszania przepuszczalności jelita i modulowania reakcji zapalnych może być jednym z kluczowych mechanizmów ich terapeutycznego działania w zaburzeniach psychicznych [64].

W 2009 roku, Li z zespołem [45] zaproponowali hipotezę mówiącą, że zmiany kompozycji mikrobiomu jelitowego mogą być wychwytywane przez komórki nerwowe ENS i przesyłane do OUN za pośrednictwem szlaków aferentnych. Bravo z zespołem [14] dostarczyli w 2011 roku danych wspierających wspomnianą hipotezę. W ich badaniu, długotrwała suplementacja bakterii *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) u myszy, zaindukowała zlokalizowane zmiany w układzie ekspresji GABAB1b mRNA (zwiększenie w obrębie obręczy oraz kory prelimbiczej, zmniejszenie w obrębie hipokampa, ciała migdałowatego oraz miejsca sinawego). Suplementacja zmniejszyła nasilenie zachowań związanych ze stresem i depresją, regulowanych przez wydzielanie kortykosteronu. Zarówno zmiany neurochemiczne, jak i zmiany w zachowaniu, nie zostały zaobserwowane u myszy, u których przecięto nerw błędny. Pozwoliło to zidentyfikować nerw błędny jako główny szlak komunikacyjny pomiędzy jelitami a mózgiem.

W 2011 roku, zespół kierowany przez Baily'ego opublikował pracę, w której opisane zostały zmiany kompozycji mikrobiomu jelitowego pod wpływem

bodźców zewnętrznych. Ekspozycja myszy na stres istotnie zmniejszała relatywną liczebność rodzaju *Bacteroides*, oraz zwiększała relatywną liczebności rodzaju *Clostridium*. Zmiany te były najwyraźniejsze, kiedy ocena wykonywana była bezpośrednio po zadziałaniu stresora [9]. Obustronne połączenie pomiędzy ENS i OUN określone zostało mianem osi jelitowo-mózgowej (gut-brain axis), lub też szerzej, osi mikrobiota-mózg-jelita (microbiota-gut-brain axis) [16, 30, 57]. Dalsze poznanie tego szlaku komunikacyjnego może okazać się kluczowe dla poznania, jak bakterie powiązane są z zachowaniem człowieka.

W ostatnich latach pojawiają się liczne publikacje eksplorujące związek bakterii bytujących w jelitach z zachowaniem, funkcjami poznawczymi i emocjami, a więc obszarem zainteresowania psychiatrów, neurologów, psychologów i neuropsychologów. Większość dostępnych danych pochodzi z badań prowadzonych na modelach zwierzęcych, w szczególności gryzoniach. Hodowla zwierząt w sterylnych warunkach, uniemożliwiających kolonizację jelit przez mikroorganizmy, oraz badania prowadzone z wykorzystaniem antybiotyków, dostarczają ważnych informacji o wpływie prawidłowego mikrobiomu na organizm, jednak mają pewne ograniczenia, które utrudniają generalizowanie wniosków na organizm człowieka. Między innymi, myszy hodowane w sterylnych warunkach wykazują zmiany w barierze krew-mózg, co może wpływać na wyniki badań [31].

Hu i wsp. [38] zaobserwowali, że brak właściwej mikrobioty jelitowej u myszy związany był z atypowym rozwojem osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) oraz zwiększonym poziomem kortykosteronu. Burokas z zespołem [16] uzyskali istotne obniżenie poziomu kortykosteronu uwalnianego po ekspozycji na stresor w wyniku suplementacji prebiotyków selektywnie stymulujących wzrost bakterii w jelitach (fruktooligosacharydów oraz kombinacji fruktooligosacharydów i galaktooligosacharydów). Pogorszenie funkcjonowania poznawczego (także u myszy), nasilone zachowania przypominające zachowania lękowe oraz zmiany w układzie serotonergicznym u myszy ze stanem zapalnym układu nerwowego wywołanym hiperamonemią udało się zredukować przez suplementację bakterii *Lactobacillus helveticus* NS8 [46].

Pierwsze doniesienia z badań prowadzonych na ludziach sugerują korzystny wpływ probiotyków i prebiotyków na zdrowie człowieka. Wykazano, że suplementacja bakterii probiotycznych z rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* przez 4 tygodnie istotnie obniża poznawczą reaktywność na obniżony nastrój, a zwłaszcza tendencję do ruminacji oraz agresywne myśli, u osób bez zaburzeń nastroju [68]. Spożywanie przez 3 tygodnie jogurtu zawierającego probiotyki poprawiało nastrój u osób z obniżonym nastrojem (bez zaburzeń nastroju) [11].

Schmidt i wsp. [65] uzyskali obniżenie poziomu wydzielanego kortyzolu u zdrowych osób, w wyniku suplementacji prebiotyku – galaktooligosacharydów. Zespół kierowany przez Jasmohana Bajaja [10], zaprezentował w kwietniu 2017 roku na Międzynarodowym Kongresie Wątroby (International Liver Congress) w Amsterdamie badanie, w którym jednorazowy przeszczep flory kałowej od zdrowego dawcy okazał się wywoływać istotnie większą poprawę funkcji poznawczych u pacjentów z encefalopatią wątrobową, w porównaniu do pacjentów leczonych według standardowego protokołu. Zaobserwowano także zmiany kompozycji mikrobiomu u pacjentów po przeszczepie – zwiększenie liczebności rodzaju *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Suplementacja probiotyków pozytywnie wpłynęła także na zdolności poznawcze pacjentów z chorobą Alzheimera w badaniu Akbari z zespołem [3]. W badaniu polskiego zespołu z 2019 roku [63] udało się wykazać wspierający efekt szczepu *Lactobacillus plantarum* 299v wobec terapii SSRI oraz poprawę funkcjonowania poznawczego u pacjentów z depresją.

Dane te mogą mieć istotne znaczenie dla naszego myślenia o zaburzeniach psychicznych. Kuracje probiotykowe wskazuje się jako potencjalną terapię uzupełniającą oraz profilaktykę zaburzeń nastroju i zaburzeń poznawczych, związanych np. z procesami starzenia się czy chorobami wpływającymi na aktywność mózgu. Zrozumienie funkcjonowania mikrobiomu jelitowego może także pomóc zwiększyć skuteczność psychofarmakologii oraz obniżyć ryzyko i skutki uboczne z nią związane [15].

## 6. Podsumowanie

Chociaż już w 1986 roku Linda Hegstrand i Roberta Hine opublikowały pracę, w której wykazały wpływ mikrobiomu jelitowego na aktywność chemiczną mózgu (obserwacja różnic w poziomie histaminy powzgórzowej u myszy hodowanych w sterylnych warunkach i konwencjonalnie) [37], dopiero rewolucja związana z odczytaniem genomu człowieka i rozwój technik sekwencjonowania skierowały uwagę wielu badaczy, w tym psychologów i neuronaukowców, na dodatkowy organ – mikrobiom, z którym organizm człowieka żyje w symbiozie. Kolejne wielkie (i mniejsze) projekty uzupełniały wiedzę o funkcjonowaniu człowieka i pozwalały na stawianie hipotez, które jeszcze kilkadziesiąt lat wcześniej mogłyby wydawać się lekkomyślne. Pozwoliły także na poszukiwanie nowych sposobów na terapię lub wspomaganie terapii wielu chorób i zaburzeń. Historia badań nad mikrobiomem człowieka obrazuje złożoną naturę naszego funkcjonowania i potrzebę integrowania wiedzy pochodzącej z dziedzin, na pierwszy rzut oka bardzo odległych, jak mikrobiologia i psychologia.

## Piśmiennictwo

1. Adams M.D., Kerlavage A.R., Fleischmann R.D., Fuldner R.A., Bult C.J., Lee N.H., Kirkness E.F., Weinstock K.G., Gocayne J.D., White O.: Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence. *Nature*, **377**, 3–174 (1995)
2. Ait-Belgnaoui A., Durand H., Cartier C., Chaumaz G., Eutamene H., Ferrier L., Houdeau E., Fioramonti J., Bueno L., Theodorou V.: Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinol.* **37**, 1885–1895 (2012)
3. Akbari E., Asemi Z., Daneshvar Kakhaki R., Bahmani F., Kouchaki E., Tamtaji O.R., Hamidi G.A., Salami M.: Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: a randomized, double-blind and controlled trial. *Front. Aging Neurosci.* **8**, 256 (2016)
4. Anderson G., Seo M., Berk M., F Carvalho A., Maes M.: Gut permeability and microbiota in Parkinson's disease: role of depression, tryptophan catabolites, oxidative and nitrosative stress and melatonergic pathways. *Curr. Pharmac. Des.* **22**, 6142–6151 (2017)
5. Anderson G., Maes M.: The gut-brain axis: The role of melatonin in linking psychiatric, inflammatory and neurodegenerative conditions. *Adv. Integr. Med.* **2**, 31–37 (2015)
6. Antequera F., Bird A.: Number of CpG islands and genes in human and mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **90**, 11995–11999 (1993)
7. Arumugam M., Bork P. i wsp.: Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, **473**, 174–180 (2011)
8. Aziz Q., Doré J., Emmanuel A., Guarner F., Quigley E.M.M.: Gut microbiota and gastrointestinal health: current concepts and future directions. *Neurogastroenterol. Motil.* **25**, 4–15 (2013)
9. Bailey M.T., Dowd S.E., Galley J.D., Hufnagle A.R., Allen R.G., Lyte M.: Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain. Behav. Immun.* **25**, 397–407 (2011)
10. Bajaj J.: Faecal microbiota transplantation improves cognitive impairment caused by recurrent severe liver disease. In: *The International Liver Congress*. pp. 1–3 (2017)
11. Benton D., Williams C., Brown A.: Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur. J. Clin. Nutr.* **61**, 355–361 (2007)
12. Binek M.: Mikrobiom człowieka – Zdrowie i choroba. *Post. Mikrobiol.* **51**, 27–36 (2012)
13. Braniste V., Peterson S. i wsp.: The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci. Transl. Med.* **6**, (2014)
14. Bravo J.A., Forsythe P., Chew M. V., Escaravage E., Savignac H.M., Dinan, T.G., Bienenstock J., Cryan J.F.: Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 16050–16055 (2011)
15. Bravo J.A., Julio-Pieper M., Forsythe P., Kunze W., Dinan T.G., Bienenstock J., Cryan J.F.: Communication between gastrointestinal bacteria and the nervous system. *Curr. Opin. Pharmacol.* **12**, 667–672 (2012)
16. Burokas A., Arboleya S., Moloney R.D., Peterson V.L., Murphy K., Clarke G., Stanton C., Dinan T.G., Cryan J.F.: Targeting the microbiota-gut-brain axis: prebiotics have anxiolytic and antidepressant-like effects and reverse the impact of chronic stress in mice. *Biol. Psychiatry*. (2017)
17. Claesson M.J., O'Toole P.W. i wsp.: Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, **488**, 178–184 (2012)
18. Claverie J.M.: Gene number. What if there are only 30,000 human genes? *Science*, **291**, 1255–1257 (2001)
19. Collins F.S., Morgan M., Patrinos A.: The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science*, **300**, 286–290 (2003)
20. The *C. elegans* Sequencing Consortium: Genome sequence of the nematode *C. elegans*: A platform for investigating biology. *Science*, **282**, 2012–2018 (1998)
21. Dalton N., Chandler S., Turner C., Charman T., Pickles A., Loucas T., Simonoff E., Sullivan P., Baird G.: Gut permeability in autism spectrum disorders. *Autism Res.* **7**, 305–313 (2014)
22. Davies J.: In a map for human life, count the microbes, too. *Science*, **291**, 2316 (2001)
23. Desbonnet L., Garrett L., Clarke G., Bienenstock J., Dinan T.G.: The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J. Psychiatr. Res.* **43**, 164–174 (2008)
24. Dinan T.G., Stanton C., Cryan J.F.: Psychobiotics: A novel class of psychotropic. *Biol. Psychiatry*. **74**, 720–726 (2013)
25. Eckburg P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., Purdom E., Dethlefsen L., Sargent M., Gill S.R., Nelson K.E., Relman D.A.: Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, **308**, 1635–1638 (2005)
26. Ewing B., Green P.: Analysis of expressed sequence tags indicates 35,000 human genes. *Nat. Genet.* **25**, 232–234 (2000)
27. Ferri G.-L., Probert L., Cocchia D., Michetti F., Marangos P.J., Polak J.M.: Evidence for the presence of S-100 protein in the glial component of the human enteric nervous system. *Nature*, **297**, 409–410 (1982)
28. Fields C., Adams M., White O., Venter J.: How many genes are in the human genome? *Nature*, 1–5 (2013)
29. Fortun M.A.: The Human Genome Project : past, present, and future anterior. 339–362 (2001)
30. Foster J.A., McVey Neufeld K.A.: Gut-brain axis: How the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci.* **36**, 305–312 (2013)
31. Fröhlich E.E., Holzer P. i wsp.: Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: Analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain. Behav. Immun.* **56**, 140–155 (2016)
32. Gonzalez A., Stombaugh J., Lozupone C., Turnbaugh P.J., Gordon J.I., Knight R.: The mind-body-microbial continuum. *Dialogues Clin. Neurosci.* **13**, 55–62 (2011)
33. Grundy D., Schemann M.: Enteric nervous system. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **22**, 102–110 (2006)
34. Haba R., Shintani N., Onaka Y., Wang H., Takenaga R., Hayata A., Baba A., Hashimoto H.: Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. *Behav. Brain Res.* **228**, 423–431 (2012)
35. Hamdani N., Tamouza R., Leboyer M.: Immuno-inflammatory markers of bipolar disorder: a review of evidence. *Front. Biosci.* **4**, 2170–2182 (2012)
36. Handelsman J.: Metagenomics: Application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **68**, 669–685 (2004)
37. Hegstrand L.R., Hine R.J.: Variations of brain histamine levels in germ-free and nephrectomized rats. *Neurochem. Res.* **11**, 185–191 (1986)
38. Hu X., Wang T., Jin, F.: Alzheimer's disease and gut microbiota. *Sci. China Life Sci.* 1–18 (2016)
39. Jeffery I.B., Claesson M.J., O'Toole P.W., Shanahan F.: Categorization of the gut microbiota: enterotypes or gradients? *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 591–592 (2012)
40. Kamada N., Chen G.Y., Inohara N., Núñez G.: Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. *Nat. Immunol.* **14**, 685–690 (2013)

41. Knights D., Ward T.L., McKinlay C.E., Miller H., Gonzalez A., McDonald D., Knight R.: Rethinking “Enterotypes.” *Cell Host Microbe*, **16**, 433–437 (2014)
42. Lander E.S. Chen Y.J. i wsp.: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, **409**, 860–921 (2001)
43. Leboyer M., Berk M., Yolken R.H., Tamouza R., Kupfer D., Groc L.: Immuno-psychiatry: An agenda for clinical practice and innovative research. *BMC Med.* **14**, (2016)
44. Lederberg J., McCray A.T.: ‘Ome sweet ‘omics – a genealogical treasury of words. *Science*, **15**, 8–8 (2001)
45. Li W., Dowd S.E., Scurlock B., Acosta-Martinez V., Lyte M.: Memory and learning behavior in mice is temporally associated with diet-induced alterations in gut bacteria. *Physiol. Behav.* **96**, 557–567 (2009)
46. Luo J., Wang T., Liang S., Hu X., Li W., Jin F.: Ingestion of *Lactobacillus* strain reduces anxiety and improves cognitive function in the hyperammonemia rat. *Sci. China Life Sci.* **57**, 327–335 (2014)
47. Lynch S. V., Pedersen O.: The human intestinal microbiome in health and disease. *N. Engl. J. Med.* **375**, 2369–2379 (2016)
48. Lyte M.: Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *BioEssays*, **33**, 574–581 (2011)
49. MacDonald T.T., Monteleone I., Fantini M.C., Monteleone G.: Regulation of homeostasis and inflammation in the intestine. *Gastroenterol.* **140**, 1768–1775 (2011)
50. Mackie R.I., Sghir A., Gaskins H.R.: Developmental microbial ecology of the neonata gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* **69**, 1035S–1045S (1999)
51. Maes M., Kubera M., Leunis J.C., Berk M.: Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: Further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. *J. Affect. Disord.* **141**, 55–62 (2012)
52. Maes M., Leunis J.C., Maes M.: Normalization of leaky gut in chronic fatigue syndrome (CFS) is accompanied by a clinical improvement: effects of age, duration of illness and the translocation of LPS from Gram-negative bacteria. *Neuroendocrinol. Letters*, **29**, 902 (2008)
53. Maqsood R., Stone T.W.: The gut-brain axis, BDNF, NMDA and CNS disorders. *Neurochem. Res.* **41**, 1–17 (2016)
54. Nagao-Kitamoto H., Kamada N.: Host-microbial cross-talk in inflammatory bowel disease. *Immune Netw.* **17**, 1 (2017)
55. NIH HMP Working Group: The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res.* **19**, 2317–2323 (2009)
56. O’Mahony L., Quigley, E. M. i wsp.: *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: Symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterol.* **128**, 541–551 (2005)
57. O’Sullivan E., Barrett E., Grenham S., Fitzgerald P., Stanton C., Ross R.P., Quigley E.M.M., Cryan J.F., Dinan T.G.: BDNF expression in the hippocampus of maternally separated rats: Does *Bifidobacterium breve* 6330 alter BDNF levels? *Benef. Microbes*, **2**, 199–207 (2011)
58. Olson M. V.: The human genome project: A player’s perspective. *J. Mol. Biol.* **319**, 931–942 (2002)
59. Olszewska J., Jagusztyn-Krynicka E.K.: Human Microbiome Project – mikroflora jelit oraz jej wpływ na fizjologię i zdrowie człowieka. *Post. Mikrobiol.* **51**, 243–256 (2012)
60. Pertea M., Salzberg S.L.: Between a chicken and a grape: estimating the number of human genes. *Genome Biol.* **11**, 206 (2010)
61. Qin, J., Wang, J. i wsp.: A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, **464**, 59–65 (2010)
62. Riedel C.U., Foata F., Philippe D., Adolfsson O., Eikmanns B.J., Blum S.: Anti-inflammatory effects of bifidobacteria by inhibition of LPS-induced NF- $\kappa$ B activation. *World J. Gastroenterol.* **12**, 3729–3735 (2006)
63. Rudzki L., Ostrowska L., Pawlak D., Małus A., Pawlak K., Waszkiewicz N., Szulc A.: Probiotic *Lactobacillus Plantarum* 299v decreases kynurenine concentration and improves cognitive functions in patients with major depression: A double-blind, randomized, placebo controlled study. *Psychoneuroendocrinol.* **100**, 213–222 (2019)
64. Rudzki L., Szulc A.: “Immune Gate” of psychopathology – The role of gut derived immune activation in major psychiatric disorders. *Frontiers in Psychiatry*, **9**, 205 (2018)
65. Schmidt K., Cowen P.J., Harmer C.J., Tzortzis G., Errington S., Burnet P.W.J.: Prebiotic intake reduces the waking cortisol response and alters emotional bias in healthy volunteers. *Psychopharmacol. (Berl)*, **232**, 1793–1801 (2015)
66. Scholz-Ahrens K.E., Schrezenmeir J.: Inulin, oligofructose and mineral metabolism – experimental data and mechanism. *Br. J. Nutr.* **87**, S179 (2002)
67. Staley J.T., Konopka A.: Microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annu. Rev. Microbiol.* **39**, 321–346 (1985)
68. Steenbergen L., Sellaro R., van Hemert S., Bosch J.A., Colzato L.S.: A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain. Behav. Immun.* **48**, 258–264 (2015)
69. Sudo N., Chida Y., Aiba Y., Sonoda J., Oyama N., Yu X.N., Kubo C., Koga Y.: Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J. Physiol.* **558**, 263–275 (2004)
70. Tremaroli V., Bäckhed F.: Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, **489**, 242–249 (2012)
71. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C.M., Knight R., Gordon J.I.: The Human Microbiome Project. *Nature*, **449**, 804–810 (2007)
72. United States. Congress. House. Committee on Science. Subcommittee on Energy and Environment.: The human genome project : how private sector developments affect the government program : hearing before the Subcommittee on Energy and Environment of the Committee on Science, U.S. House of Representatives, One Hundred Fifth Congress, second session, June 17, 1998. U.S. G.P.O. (1998)
73. Venter J.C., Zhu X. i wsp.: The sequence of the human genome. *Science*, **291**, 1304–1351 (2001)
74. Vogel F.: A preliminary estimate of the number of human genes. *Nature*, **201**, 847 (1964)
75. Wall R., Cryan J.F., Paul Ross R., Fitzgerald G.F., Dinan T.G., Stanton C.: Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics. *Adv. Exp. Med. Biol.* **817**, 221–239 (2014)
76. Wallace C.J.K., Milev R.: The effects of probiotics on depressive symptoms in humans: a systematic review. *Ann. Gen. Psychiatry*, **16**, 14 (2017)
77. Watson, J.D.: The human genome project: past, present, and future. *Science*, **248**, 44–49 (1990)
78. Wischmeyer P.E.: Glutamine: Role in gut protection in critical illness. *Curr. Opin. Nutr. Metab. Care*, **9**, 607–612 (2006)
79. Wu G.D., Lewis J.D.: Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, **334**, 105–108 (2011)
80. Xu Y., Zhou H., Zhu Q.: The Impact of microbiota-gut-brain axis on diabetic cognition impairment. *Front. Aging Neurosci.* **9**, 106 (2017)
81. Yong E.: Gut microbial “enterotypes” become less clear-cut. *Nature*, 8–10 (2012)
82. Zoetendal E.G., Akkermans A.D., De Vos, W.M.: Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 3854–3859 (1998)