



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

L'eix intestí-cervell. Contribució de la microbiota intestinal a les malalties mentals.

Juan Carlos Caballero Froilán

Grau de Biologia

Any acadèmic 2017-18

43209073P

Treball tutelat per Jerònia Lladó Vich

Departament de Biologia

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Antibiòtic, probiòtic, comportament, estrès, ansietat, desordre.

Índex

1. Abreviatures.....	4
2. Resum	5
3. Introducció	6
4. Objectius.....	8
5. Materials i mètodes.....	9
6. Resultats i discussió.....	10
6.1 Conseqüències de l'administració d'antibiòtics sobre la microbiota intestinal i els seus efectes sobre el SNC.....	10
6.1.1 Efectes de l'administració d'antibiòtics sobre la neurogènesi.	10
6.1.2 Efectes de l'administració d'antibiòtics sobre la composició de la microbiota intestinal i el comportament de l'individu afectat.....	12
6.1.3 Relació entre l'administració d'antibiòtics i el desenvolupament del desordre obsessiu-compulsiu (OCD).	14
6.2 Conseqüències de l'administració de probiòtics sobre la microbiota intestinal i els seus efectes sobre el SNC.....	15
6.2.1 Efectes ansiolítics i antidepressius de l'administració de probiòtics.....	15
6.2.2 Efectes dels probiòtics en la prevenció del deteriorament del cervell causat per l'edat.....	18
6.2.3 Efectes de l'administració de probiòtics sobre el comportament.....	20
6.3 Efectes dels antibiòtics i probiòtics en el desenvolupament d'autisme.....	20
6.4 Importància del nervi vague com a via de transmissió dels efectes dels probiòtics i antibiòtics.	22
6.5 Ressenya final.....	23
7. Conclusions	24
8. Agraïments	24
9. Bibliografia	25

1. Abreviatures

AB- Antibiòtics orals.

ACTH- Hormona adrenocorticotròpica.

AGCC- Àcids grassos de cadena curta.

AMG- Amígdala.

BBB- Barrera hematoencefàlica.

BDNF- Factor neurotròfic derivat del cervell.

CFS- Síndrome de fatiga crònica.

CSF- Fluid cerebroespinal.

CRF- Factors de lliurament corticotròfics.

DRG- Gangli d'arrel dorsal.

DSS- Dextrà de sulfat de sodi.

ENS- Sistema Nerviós Entèric.

GABHS- grup A d'estreptocòcic beta-hemolític.

GI- Gastrointestinal.

HADS- Escala d'ansietat i depressió hospitalària.

HIPP- Hipocamp.

HPA- Hipotalàmic-Pituïtari-Adrenal.

HSCL- Hopkins Symptom Checklist.

HYP- Hipotàlem.

IBS- Síndrome del còlon irritable.

LcS- *Lactobacillus casei* soca Shirota.

LPS- Lipopolisacàrids.

Irf7- Factor 7 de regulació d'interferons.

LTP- Potenciació a llarg termini.

MIC- Microbiota-intestí-cervell.

MPO- Mieloperoxidasa.

NPC- Cèl·lula progenitora de neurona.

OCD- Desordre obsessiu-compulsiu.

PANDAS- Trastorns neuropsiquiàtrics autoimmunitaris pediàtrics associats amb infeccions estreptocòccies.

PF- Fórmula probiòtica.

PL- Placebo.

SNA- Sistema Nerviós Autònom.

SNC- Sistema Nerviós Central.

SPF- Flora intestinal normal.

Vx- Individus vagotomitzats.

2. Resum

Durant molt de temps s'ha pensat que els desordres mentals tenien com a únic implicat el sistema nerviós, però en els darrers anys s'ha comprovat que la composició de la nostra microbiota intestinal juga un paper molt important en la regulació i manteniment del nostre sistema nerviós. En el present treball s'ha realitzat una recerca bibliogràfica en la que s'ha pogut observar que la presa d'antibiòtics pot tenir efectes potencialment negatius sobre la nostra salut mental al produir disbiosis en la nostra microbiota intestinal, i aquests afectes poden persistir en la vida adulta si l'antibiòtic és pres en etapes primerenques de la vida. Per altra banda, els probiòtics presenten efectes positius ja que tenen la capacita de tornar la nostra microbiota al seu estat normal, a més de reforçar-la, eliminant o alleugerint els efectes negatius produïts pels antibiòtics o per l'ambient, com poden ser ansietat, estrès o la disminució de la neurogènesi.

Resumen

Durante mucho tiempo se ha pensado que los desórdenes mentales tenían como único implicado el sistema nervioso, pero en los últimos años se ha comprobado que la composición de nuestra microbiota intestinal tiene un papel muy importante en la regulación y mantenimiento de nuestro sistema nervioso. En el presente trabajo se ha realizado una búsqueda bibliográfica en la que se ha podido observar que la toma de antibióticos puede tener efectos potencialmente negativos sobre nuestra salud mental al producir disbiosis en nuestra flora intestinal, y estos efectos pueden persistir en la vida adulta i el antibiòtico es tomado en etapas tempranas de la vida. Por otra parte, los probióticos tienen efectos positivos ya que pueden devolver nuestra flora intestinal a su estado normal, además de reforzarla, eliminando o disminuyendo los efectos negativos producidos por los antibiòticos o el ambiente, como pueden ser la ansiedad, estrés o la disminución de la neurogénesis.

Abstract

For a long time it has been thought that mental disorders involved only the nervous system, but in recent years it has been proven that the composition of our intestinal microbiota plays a very important role in the regulation and maintenance of our nervous system. In present work, a bibliographical search has been carried out in which it has been observed that taking antibiotics can have a potentially negative effects on our mental health producing dysbiosis of our intestinal microbiota, and these affections may persist in adulthood if the antibiotic is taken in early stages of life. On the other hand, probiotics have positive effects as they have the capacity to return our microbiota to its normal state, as well as enhancing it, eliminating or reducing the negative effects produced by antibiotics or the environment, such as anxiety, stress or diminished neurogenesis.

3. Introducció

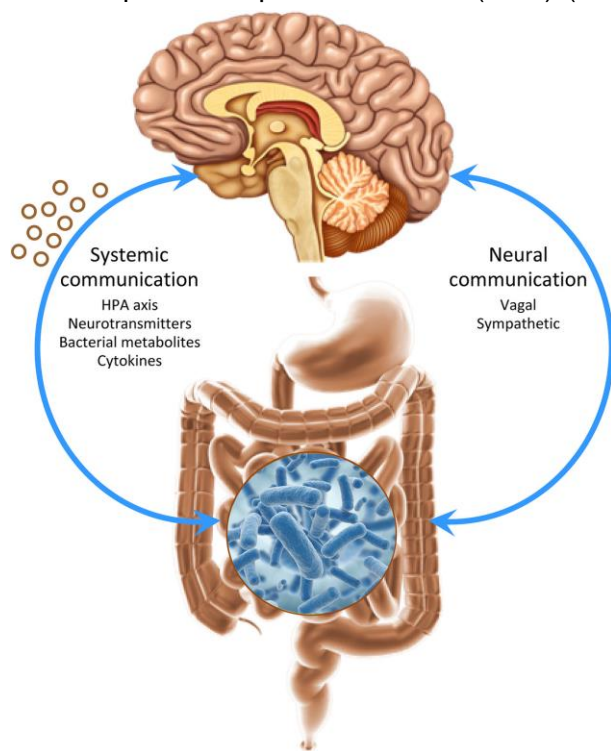
Les malalties o trastorns mentals són alteracions en la forma en que les persones capten la realitat, executen els raonaments, processen les emocions i es relacionen amb l'entorn i les altres persones. Són exemples de malalties mentals: la depressió, esquizofrènia, autisme, ansietat, estrès, entre d'altres. Aquests tipus d'afeccions són un dels principals problemes de salut a resoldre per la nostra societat i moltes vegades tenen causes desconegudes i són impossibles de curar o tractar. S'estima que avui en dia aproximadament 450 milions de persones arreu del món pateixen aquest tipus de dolències i al 2020 les malalties mentals podran explicar el 15% de la discapacitat mundial, sent la depressió la segona causa de discapacitat en el món (Jané-Llopis, & Sal, 2004).

Moltes vegades s'ha considerat el sistema nerviós com el focus principal dels trastorns mentals, ja que és qui s'encarrega de rebre, processar i elaborar una resposta enfront d'un estímul intern o extern a l'organisme, però en els darrers anys s'ha demostrat que no és així, malgrat és un dels principals sistemes implicats, concretament el cervell, no és l'únic. Una sèrie d'investigacions amb models animals han demostrat el paper fonamental que té la nostra microbiota intestinal en la nostra salut tant física com mental (Mayer et al., 2014). La microbiota intestinal, composta per milers d'espècies diferents de microorganismes i més de 15000 espècies de bacteris, té un pes total aproximadament de 1 kg i forma part de la primera línia de defensa del nostre sistema gastrointestinal (Mangiola et al., 2016). La flora intestinal protegeix a les cèl·lules epitelials de patir danys (Rakoff-Nahoum et al., 2004), regula l'emmagatzemament de greix a l'hoste (Bäckhed et al., 2004), i estimula l'angiogènesi intestinal (Stappenbeck et al., 2002). Les poblacions que es troben adherides a la superfície poden ser diferents i tenir altres funcions que les que es troben al lumen. Per exemple, la microbiota que forma biofilms en la mucosa, quan es troba molt pròxim a l'epiteli de l'intestí, presenta funcions beneficioses com l'intercanvi de nutrients i la inducció de la immunitat innata de l'hoste (Sonnenburg et al., 2004). Eckburg i cols (2005) van caracteritzar la diversitat de la microbiota intestinal humana. En aquest estudi van trobar 395 filotips del regne Bacteria i un del regne Archaea (*Methanobrevibacter smithii*). Dels 395 filotips pertanyents al regne Bacteria, 244 (62 %) varen ser de nou descobriment, i el 80 % representaven espècies que no havien pogut cultivar-se (Zuniga-Pflucker et al., 2001). Molts d'aquests microorganismes eren membres dels filos Bacteroidetes i Firmicutes. El filo Firmicutes consisteix en 301 filotips, 191 dels quals són de nou descobriment; el 95 % dels Firmicutes trobats eren de la classe Clostridia i 42 d'aquests filotips eren productors de butirats, i la seva funció és la de mantenir i protegir l'epiteli del còlon (Barcenilla et al., 2000 & Pryde et al., 2002). Bacteroidetes és conegut per presentar efectes beneficiosos com afavorir l'absorció de nutrients, la maduració i el manteniment de les cèl·lules epitelials (Hooper et al., 2001). Per altra banda, els filos Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria i Verrucomicrobia no van tenir molta representació, encara que no és sorprenent la poca abundància de Proteobacteria ja que aproximadament només el 0.1 % de les espècies facultatives estan presents en ambient anaeròbics com el còlon (Hayashi et al., 2002; Suau et al., 1999 & Wang et al., 2003).

S'ha revelat que la comunicació creuada entre l'intestí i el cervell és un sistema complex que permet un manteniment de la homeòstasi intestinal i a més té múltiples efectes en

l'afecte, motivació i en les funcions cognitives. La complexitat d'aquestes interaccions s'inclou en el que es denomina eix intestí-cervell (Rhee et al., 2009). El seu paper és el de integrar i monitoritzar les funcions de l'intestí, així com relacionar els centres emocionals i cognitius del cervell amb les funcions perifèriques de l'intestí i amb mecanismes tals com l'activació immune, permeabilitat intestinal, reflex intestinal i la senyalització entero-endocrina (Carabotti et al., 2015).

El concepte eix microbiota-intestí-cervell (MIC) explica la connexió que existeix entre la microbiota intestinal, per la qual som colonitzats els primers dies de vida, ja sigui patogènica o comensal, amb el sistema nerviós central (SNC) mitjançant dues vies bidireccionals, ja sigui per comunicació neural mitjançant el nervi vague o per comunicació sistèmica gràcies a l'eix hipotalàmic-pituitari-adrenal (HPA) (Mayer et al., 2014), es a dir, la interacció de la microbiota amb l'eix intestí-cervell, com es pot observar a la figura 1:



microbiota amb l'eix intestí-cervell, com es pot observar a la figura 1:

Fig. 1. Representació dels canals de comunicació bidireccional entre la microbiota, l'intestí i el cervell. (senyals endocrines, neurocrines i d'inflamació generades per la microbiota intestinal i per cèl·lules especialitzades que afecten al cervell). Per altra banda, el cervell pot influir en la composició i funció de la microbiota intestinal per la via endocrina i per mecanismes neurals (Mayer et al., 2014).

Aquesta xarxa de comunicació bidireccional inclou el SNC, cervell i medul·la espinal, sistema nerviós autònom (SNA), el sistema nerviós entèric (ENS) i l'eix HPA (Fig 2). El sistema nerviós autònom, amb els sistemes simpàtic i parasimpàtic, condueixen ambdues senyals aferents, que surten des del sistema nerviós entèric i es transmeten gràcies a les vies entèriques, vagals o espinals al SNC, i eferentment des del SNC a la paret intestinal (Carabotti et al., 2015). L'eix HPA és considerat el nucli eferent de l'eix de l'estrès que coordina les respostes adaptatives de l'organisme enfront de qualsevol tipus d'estressors (Tsigos et al., 2002). Forma part del sistema límbic que és l'àrea del cervell que s'encarrega de la memòria i de les respostes emocionals. Així doncs, patir estrès o presentar alts nivells de citocines proinflamatòries, activen el sistema límbic que mitjançant el lliurament de factors de lliurament corticotròfics (CRF) des de l'hipotàlem estimulen la hormona adrenocorticotròpica (ACTH) en la glàndula pituitària que tindrà com a conseqüència el lliurament de cortisol en les glàndules adrenals. El cortisol és conegut per ser una hormona estressant que pot afectar a molts d'òrgans humans entre ells, el cervell. Doncs, ambdues línies de comunicació, hormonal i neural, es combinen, el que permet al cervell influir en les

activitats de les cèl·lules funcionals efectores de l'intestí, tals com les cèl·lules immunes, cèl·lules epitelials, neurones entèriques, cèl·lules del múscul llis de l'intestí, cèl·lules intersticials de Cajal i cèl·lules enterocromafines (Carabotti et al., 2015). I a la vegada aquestes mateixes cèl·lules influeixen a la microbiota intestinal (Mayer et al., 2014).

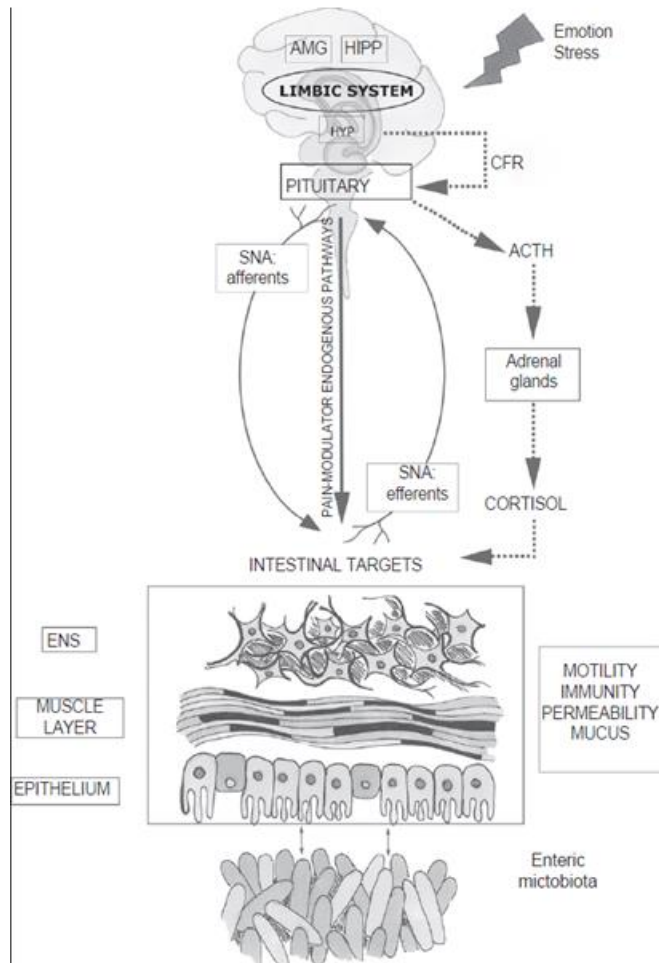


Fig. 2. Estructura de l'eix microbiota-intestí-cervell. El sistema nerviós central i en particular l'eix hipotàlem pituïtària adrenal (HPA) poden ser activats en resposta a factors ambientals com emocions i estrès. L'HPA lliura el cortisol, que és conduït per una sèrie de interaccions complexes entre l'amígdala (AMG), hipocamp (HIPP) i l'hipotàlem (HYP); sent l'AMG, l'HIPP i l'HYP els constituents del sistema límbic. Les secrecions de l'HYP de factors de lliurament corticotròfics (CRF) estimulen la secreció de l'hormona adrenocorticotròpica (ACTH) des de la glàndula pituïtària que a la vegada condueix al lliurament de cortisol des de les glàndules adrenals. Paral·lelament, el SNC comunica amb ambdós camins autònoms, aferents i eferents (SNA) amb diferents objectius intestinals tals com el sistema nerviós entèric (ENS), capes musculars i la mucosa intestinal, modulant la motilitat, immunitat, permeabilitat i secrecions de moc. La microbiota intestinal presenta una comunicació bidireccional modulant funcions gastrointestinals i sent modulada en sí mateixa per interaccions cervell-intestí (Carabotti et al., 2015).

4. Objectius

La microbiota intestinal té un paper en el funcionament normal del nostre organisme, sent vital la relació que manté amb el SNC gràcies a la comunicació entre la microbiota, l'intestí i el cervell. Alteracions de l'estructura de la flora intestinal podrien repercutir de forma important en les funcions del SNC (Mayer et al., 2014). Els antibiòtics són les substàncies més emprades actualment per a combatre infeccions bacterianes per milions de persones en tot el món (Morgun et al., 2015) i els probiòtics estan guanyant molta força avui en dia com a suplement per reforçar el sistema immune, i és conegut que ambdós productes tenen la capacitat d'alterar la microbiota (Möhle et al., 2016 & Messaoudi et al., 2011). En aquest context, l'objectiu d'aquest treball de recerca bibliogràfica és conèixer, a dia d'avui, els efectes d'aquestes substàncies tan comercialitzades i accessibles per la gran majoria de la població mundial, com són els antibiòtics i els probiòtics, en el desenvolupament de

malalties mentals, per la seva possible interferència en la comunicació entre la microbiota, l'intestí i el cervell.

5. Materials i mètodes

A la fi d'aconseguir els objectius anteriorment esmentats, es va realitzar un recerca bibliogràfica utilitzant el cercador PubMed.

Per tal de conèixer l'estructura del microbiome humà, es va realitzar una primera recerca introduïnt a PubMed les paraules clau "human microbiome strains", obtenint 529 resultats si es limita la recerca a *review*. En una segona recerca es van introduir a PubMed les paraules clau "gut-brain axis, central nervous system, enteric microbiota" i es van obtenir 46 resultats. En la tercera recerca es van introduir les paraules clau "gut microbes and brain" i es van obtenir 225 resultats. En la quarta recerca, les paraules claus escollides van ser "antibiotic and gut microbiota", obtenint 622 resultats, si es limita a *review*. En la cinquena recerca es van introduir les paraules clau "mental disorders and microbiome and antibiotics" i es van obtenir 38 resultats. De tots els resultats obtinguts en les 5 recerques, es van triar aquells articles que es van trobar més rellevants i actuals pel tema, i es van descartar els articles que pel seu abstract varen ser considerats irrellevants pel nostre estudi. La resta d'articles referenciats foren seleccionats entre les cites bibliogràfiques dels articles escollits anteriorment.

6. Resultats i discussió

6.1 Conseqüències de l'administració d'antibiòtics sobre la microbiota intestinal i els seus efectes sobre el SNC

Els antibiòtics han estat usats per milions de persones i animals de granja arreu del món durant dècades, a més de que s'han salvat nombroses vides gràcies al seu ús (Möhle et al., 2016). Actualment 4 de cada 10 adults i 7 de cada 10 infants reben antibiòtics cada any per tractar malalties infeccioses, amb efectes positius sobre l'organisme (Morgun et al., 2015), però el subministrament d'antibiòtics podria ocasionar efectes secundaris com alteracions fisiològiques i psicològiques (Bercik & Collins, 2014; Mostafa & Miller, 2014). A més els antibiòtics poden ocasionar un impacte a l'eix intestí-cervell, ocasionant efectes en les funcions vegetatives i cognitives de l'hoste (Heijtz et al., 2011; Mayer, 2011).

6.1.1 Efectes de l'administració d'antibiòtics sobre la neurogènesi.

Es va realitzar un estudi on van examinar la relació existent entre tractar rates amb antibiòtics, la seva flora intestinal i la quantitat de cèl·lules progenitores de neurones (NPC) (Möhle et al., 2016). Quan a les rates que havien estat tractades amb antibiòtics, se'ls subministra probiòtics o realitzaven voluntàriament exercici, eren capaces de restaurar la neurogènesi, com ja ho havien demostrat anteriorment altres autors (Ait-Belgnaoui et al., 2014 & Wolf et al., 2011). També demostraren que tant administrant probiòtics com fent exercici, augmenten la quantitat de monòcits Ly6C^{hi} en el cervell (Fig. 3).

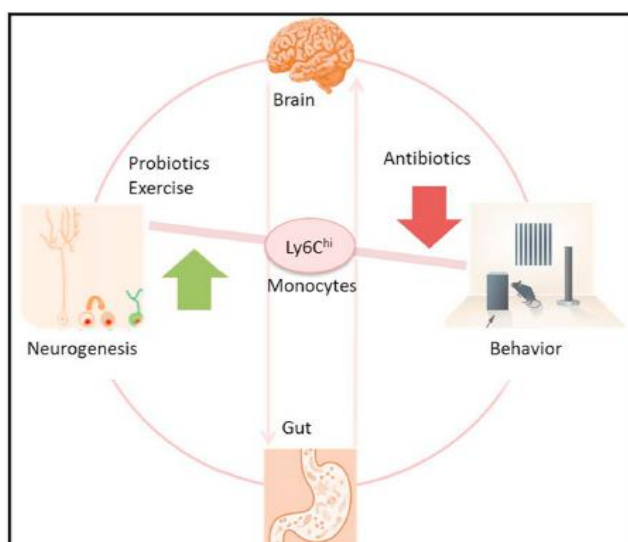


Fig. 3. Relació de l'efecte d'administrar antibiòtics i probiòtics a rates, amb la presència de monòcits Ly6C^{hi} i la modulació de la neurogènesi (Möhle et al., 2016).

Una falta d'aquest tipus de monòcits o realitzar un tractament amb anticòssos, ens conduirà a un estat de baixa neurogènesi, mentre que una transferència de monòcits Ly6C^{hi} serà capaç de restaurar la capacitat de neurogènesi en rates tractades amb antibiòtics (Gordon & Taylor, 2005). Pel contrari la neurogènesi de rates tractades amb antibiòtics no es va poder restaurar quan li van trasplantar matèria fecal d'una rata amb una flora intestinal normal (SPF), el que implica un efecte directe de l'antibiòtic en l'hoste. En concret, es va demostrar que els canvis en l'expressió de gens en l'intestí de rates tractades amb antibiòtics eren

causa de la depleció de la microbiota i d'efectes directes de l'antibiòtic sobre el teixit (Bercik & Collins, 2014). A més, únicament realitzant exercici ja s'era capaç de contrarestar la falta d'una microbiota intestinal complexa i restaurar parcialment la neurogènesi. Això va permetre a Möhle i cols (2016) concloure que no només la falta de microbiota determina els nivells de neurogènesi, sinó que també hi ha altres factors implicats. Aleshores van determinar que hi hauria d'haver un intermediari present, amb senyals des de la perifèria al cervell, i que dit intermediari fos afectat per antibiosi i pogués ésser restaurat per probiòtics o exercici. I basant-se amb les seves dades dels experiments de depleció de la microbiota, Möhle i cols (2016) van proposar que el monòcit Ly6C^{hi} servia com a enllaç entre el cervell i l'intestí, modulant la neurogènesi.

La microbiota de l'hoste és qui s'encarrega de mantenir la població de cèl·lules mieloides en circulació, modulant les cèl·lules hematopoètiques i els precursors mieloides de la medul·la de l'os (Deshmukh et al., 2014). D'acord amb això, en animals que són lliures de microorganismes, els macròfags esplènics derivats de la medul·la òssia, i la població de monòcits, es veuen reduïts (Khosravi et al., 2014). Möhle i cols (2016) seguint la línia d'aquests descobriments, van demostrar que després d'una setmana d'haver interromput el tractament amb antibiòtics la població de mieloides derivats de la medul·la òssia disminuïa en la medul·la òssia i en la sang, però en haver passat 4 setmanes de la interrupció del tractament d'antibiòtic, els mieloides tornaven estar a nivells normals en la medul·la òssia i en la sang. Per altra banda la disminució de monòcits Ly6C^{hi} en el cervell encara era evident. Això pot ésser explicat per la lenta i constant conversió de les cèl·lules immunes en el cervell. No obstant, encara s'ha d'investigar si el subministrament prolongat d'antibiòtics podria causar efectes prolongats en la neurogènesi i en les funcions del cervell. Malgrat tot això, el nombre de macròfags residents al cervell, la micròglia, no canvia en presència d'antibiòtic (Möhle et al., 2016). En canvi la micròglia, sí es veu greument afectada en animals sense microorganismes, i per tant el seu sistema immune (Cerf-Bensussan & Gaboriau-Routhiau, 2010).

La neurogènesi adulta és un procediment molt complexe que engloba molts de factors com metabòlits, hormones i neurotransmissors (Kempermann et al., 2015), per aquest motiu els ratolins tractats amb antibiòtic poden estar influenciats per altres factors a més del nivell de concentració dels monòcits Ly6C^{hi} (Möhle et al., 2016). La depleció de la microbiota intestinal amb antibiòtics des del deslletament redueix l'ansietat i indueix dèficits cognitius, mentre que els nivells dels factors neurotròfics de derivats del cervell (BDNF) que són neurotrofines que participen en el desenvolupament i plasticitat i intervenen en l'aprenentatge i la memòria, i també en la depressió i l'ansietat (Deltheil et al., 2008). En el cervell adult, es van reduir molt (Desbonnet et al., 2015), aquestes troballes segueixen la línia de l'observat en Möhle i cols (2016), on es veu en rates adultes tractades amb antibiòtic, una reducció en la neurogènesi i dèficits cognitius. A més cal tenir en compte altres factors a part de la falta de microbiota en ambdós models, ja sigui el possible efecte de l'antibiòtic en rates tractades amb antibiòtic o la manca de desenvolupament en rates lliures de microorganismes (Möhle et al., 2016).

Podem concloure que el tractament amb antibiòtics resulta en un deteriorament de la neurogènesi, però que pot ésser restaurada per l'administració de probiòtics o realitzant exercici, sent crítics pel seu restaurament els monòcits Ly6C^{hi}.

6.1.2 Efectes de l'administració d'antibiòtics sobre la composició de la microbiota intestinal i el comportament de l'individu afectat.

Leclercq i cols (2017) van estudiar les conseqüències de subministrar baixes dosis de penicil·lina en ratolins en períodes perinatals, període que compren una setmana abans de néixer i fins al deslletament. Van avaluar les funcions de la barrera intestinal, la microbiota intestinal, la integritat de la barrera hematoencefàlica (BBB), l'expressió de citocines i el comportament (Leclercq et al., 2017). A més, com els desordres anímics tenen més incidència en dones que en homes (Schuch et al., 2014), van mirar les diferències dels efectes en rates femelles i mascles.

Els antibiòtics orals (AB) beta-lactàmics són els prescrits més freqüentment en infants (Chai et al., 2012), però els possibles efectes a llarg termini que poden tenir no han estat molt estudiats fins fa poc (Leclercq et al., 2017). Un bon exemple és la disminució de la capacitat cognitiva, és a dir, la capacitat de processar informació, en l'etapa adulta en aquelles rates que se'ls va administrar AB (Slykerman et al., 2017). Hi ha certes evidències que els bacteris intestinals comuniquen amb el cervell i indueixen canvis en la neuroquímica i el comportament (Cryan et al., 2012; Forsythe et al., 2016 & Collins et al., 2012). Models lliures de microorganismes o animals als que s'han administrat altes dosis d'AB han demostrat tenir alteracions cognitives i comportamentals, associades a la disbiosi de la microbiota intestinal (Neufeld et al., 2011; Bercik et al., 2011; Desbonnet et al., 2014; Desbonnet et al., 2015 & Fröhlich et al., 2016).

Leclercq i cols (2017) van trobar que tractar rates amb AB de les etapes primerenques de la seva vida, els induïa canvis a llarg termini en la composició de la microbiota intestinal, en la integritat de la BBB i en les citocines del cervell, així com el seu comportament. A més, també se'ls va subministrar una dosi de probiòtic *Lactobacillus rhamnosus* JB-1 per veure si era capaç d'atenuar els efectes de l'AB i efectivament era capaç d'atenuar-los, però aquest darrer resultat hauria d'ésser recomprovat en estudis futurs ja que el grup de mascles en el grup AB/JB-1 no era significativament gran. També s'ha de reconèixer que exposar a AB durant l'embaràs i el deslletament a rates, no es pot comparar completament a fer-ho a infants humans. A més en futurs estudis també s'hauria d'estudiar el nombre i durada mínima de les repeticions a les exposicions d'AB en èpoques primerenques que poden conduir a canvis a llarg termini en la fisiologia de l'hoste (Leclercq et al., 2017).

Una vegada més s'ha observat en l'estudi de Leclercq et al., (2017) que les rates tractades amb AB presenten una microbiota intestinal alterada, especialment després del part. Encara que no es va avaluar la microbiota vaginal de la mare, podria ser que les cries fossin colonitzades al néixer per una microbiota alterada de la mare. S'ha demostrat que els AB poden disminuir els nivells vaginals de *Lactobacillus* i incrementar els de *Escherichia coli* en dones embarassades (Tempera et al., 2009 & Stokholm et al., 2014). En un estudi recent es va demostrar que exposar rates a baixes dosis de penicil·lina en etapes primerenques de la vida, reduïa l'abundància de Rikenellaceae i Lactobacillaceae, el quals són considerats protectors potencials contra perturbacions metabòliques de llarga durada (Cox et al., 2014). I en un altre estudi es va demostrar que tractar les cries amb AB incrementava l'abundància de Lachnospiraceae i Bacteroidetes S24-7, el que es relaciona amb una propensió a patir problemes immunes i de diabetis (Krych et al., 2015). Doncs es va hipotetitzar que el canvis

produïts en la microbiota a causa d'una exposició primerenca en la vida a AB podria comportar en alteracions comportamentals de llarga durada (Leclercq et al., 2017).

Altres alteracions en la composició de la microbiota per tractaments d'AB en cries, van comportar canvis significatius en el comportament que molt probablement no tenen res a veure amb l'efecte tòxic i directe de la penicil·lina en el cervell, ja que la penetració de la penicil·lina en absència d'infeccions en el fluid cerebroespinal (CSF), és molt lenta, a part de que l'eliminació renal de la penicil·lina V és molt ràpida (Grayson et al., 2017). Els canvis comportamentals consisteixen en un decreixement de l'ansietat i del comportament social, reducció de la preferència per la novetat social i un augment significatiu de l'agressivitat amb la preservació de l'activitat locomotora general (Leclercq et al., 2017). A més el niu de les cries de rates tractades amb AB van ésser avaluats i no es van trobar anormalitats o signes de canibalisme en ells, el que suggereix que la disbiosi intestinal que té lloc en les mares tractades amb AB, no afecta al seu instint maternal (Leclercq et al., 2017), observacions que corroboren els resultats de Sudo i cols (2004).

Malgrat l'estructura de la microbiota intestinal va ser similar tant en mascles com en femelles, es van trobar diferències comportamentals respecte al sexe (Leclercq et al., 2017). Un estudi anterior, dut a terme en rates lliures de microorganismes, mostra que les alteracions del SNC es van produir de manera específica per al sexe i que la restauració de l'ansietat com a comportament es va dur a terme reconstruint la microbiota intestinal normal, tenint efecte en mascles però no en femelles (Clarke et al., 2013). En Leclercq i cols (2017), en mascles tractats amb AB es va aconseguir reduir l'ansietat com a comportament, però no en femelles. Per disminuir l'ansietat en femelles, va ésser necessari un tractament concurrent amb JB-1. S'ha demostrat prèviament, que en ratolins BALB/c mascles, el suplement amb JB-1, resulta en un decreixement en els nivells d'ansietat i depressió (Bravo et al., 2011). Aquests canvis emocionals induïts per JB-1 van ocórrer via del nervi vague, ja que en individus vagotomitzats (Vx) tractats amb JB-1, no es van observar canvis. No hi ha dades dels efectes de JB-1 en rates femelles amb el nervi vague intacte (Leclercq et al., 2017). Tot això demostra que tant mascles com femelles no responen igual als tractaments, el que mostra la necessitat d'estudiar les diferències de sexe en estudis futurs de rosegadors, ja que els cicles hormonals poden jugar un rol molt important, i és possible que un altre factor immunològic o neuroendocrí sense identificar o metabòlits bacterians, influïssin en el nervi vague, que podria ésser l'origen de les diferències sexuals en les respostes als tractament amb JB-1 i AB (Leclercq et al., 2017).

S'ha demostrat prèviament que ratolins lliures de microorganismes i en adults tractats amb una mescla d'antimicrobians no absorbibles, presenten una disminució en ansietat i comportament social (Neufeld et al., 2011; Desbonnet et al., 2014 & Bercick et al., 2011). Bercick i cols (2014), després de 2 setmanes de període de rentat d'AB, el comportament ansiolític retorna a la normalitat. Leclercq i cols (2017), inclús després de 3 setmanes del cessament del tractament amb AB, els ratolins encara mostraven alteracions significatives en el comportament i en la sociabilitat, suggerint que la colonització bacteriana prèvia al deslletament, és crucial per establir a llarg termini certs comportament, tal i com es suggereix a Desbonnet i cols (2014).

Leclercq i cols (2017) van observar que algunes de les rates tractades amb AB, demostraven un comportament agressiu en el paradigma resident-intrús, fent referència a

com reacciona l'animal "resident" quan una altre animal "intrús" invadeix el seu territori, passant més temps interactuant amb el ratolí agressor. Aquests ratolins agressius tractats amb AB van ser caracteritzats per una sobreexpressió de Avpr1b en el còrtex frontal (Leclercq et al., 2017). Es sap que Avpr1b està relacionat amb el comportament agressiu ja que la deleció d'aquest gen o l'administració d'un antagonista per dit gen, es tradueix en un disminució del comportament agressiu (Wersinger et al., 2002 & Blanchard et al., 2005).

6.1.3 Relació entre l'administració d'antibiòtics i el desenvolupament del desordre obsessiu-compulsiu (OCD).

L'OCD, és una condició crònica debilitant, caracteritzada per intrusivitat, impulsos distònics de l'ego i sovint acompanyat de rituals compulsius. L'OCD consisteix en un conjunt heterogeni de símptomes en què l'anàlisi de factors es pot utilitzar per categoritzar els pacients en grups que inclouen presentacions de símptomes tan dispars com "simetria / acaparament", "contaminació / neteja" i "obsessions pures" (Rees, 2014).

Pareix que els factors estressants externs tenen certa rellevància en el desenvolupament d'OCD o predisposen a patir-lo. Però els mecanismes pels quals l'estrès es capaç de conduir a patir OCD, són desconeguts. És important pel desenvolupament d'OCD que l'estrès i l'activitat HPA poden alterar la composició de la microbiota intestinal (Rees, 2014). En un altre estudi, ja es mostrava que l'estrès tenia la capacitat d'alterar la flora intestinal significativament en rates (Tannock & Savage, 1974). A més també es va demostrar que l'estrès disminuïa l'abundància del gènere *Bacteroides* en el cec, mentre que alhora augmentava l'abundància del gènere *Clostridium* (Bailey et al., 2011). Amb això en ment, podria ser que l'OCD no es desenvolupi per l'estrès en sí mateix sinó per l'efecte d'aquest sobre la microbiota intestinal (Rees, 2014). Així doncs, podem suposar que el subministrament d'antibiòtics també podrien desembocar en el desenvolupament d'OCD ja que té la capacitat d'alterar la microbiota intestinal (Rashid et al., 2012 & Sullivan et al., 2001). A més aquestes alteracions de la microbiota intestinal causades pels antibiòtics poden tenir implicacions a llarg termini, persistint molts d'anys després de l'ús d'antibiòtics (Jernberg et al., 2007; Löfmark et al., 2008 & Sjlund et al., 2003).

Relacionat amb aquesta hipòtesi, Swedo i cols (1998) va observar que en un grup prepubescent que patien OCD, van desenvolupar un episodi dramàtic de comportament OCD com a conseqüència d'haver patit faringitis causada per una infecció del grup A d'estreptocòcic beta-hemolític (GABHS) (Swedo et al., 1998). Aquest fenomen rep el nom de trastorns neuropsiquiàtrics autoimmunitaris pediàtrics associats amb infeccions estreptocòccies (PANDAS) (Gilbert & Kurlan, 2009), i ha estat observat per molts d'investigadors per validar que la presència de GABHS pot induir el desenvolupament d'OCD (Martino et al., 2009 & Snider & Swedo, 2004). Per aquest motiu l'explicació per la qual pacients amb GABHS arriben a desenvolupar OCD seria la reducció o eliminació de microbiota intestinal causada per l'administració d'antibiòtics per tractar la GABHS (Rees, 2014).

Si la gènesi de la susceptibilitat a patir OCD recau en l'estat disfuncional de la microbiota intestinal a causa d'una disbiosi, un possible remei podria ser reintroduir microbiota que ajudés a recuperar la composició normal de la microbiota intestinal, com ho són els

probiòtics. Els probiòtics ja han estat suggerits com a teràpia en la majoria dels desordres depressius (Logan & Katzman, 2005), també s'ha demostrat que tenen la capacitat de ser vehicles lliuradors per a certs components neuroactius (Lyte, 2011). Addicionalment es sap que l'administració oral de *Bifidobacterium infantis* incrementa els nivells de triptòfan, precursor de la serotonina (Desbonnet et al., 2008). Així com el rol de la microbiota de modificar punts clau del SNC s'aclareixi més, no seria desorbitant pensar que els probiòtics puguin tenir un paper clau en la recuperació de pacients amb OCD.

Com hem vist en estudis anteriors (Möhle et al., 2016; Leclercq et al., 2017 & Rees, 2014) els efectes adversos que produeixen els antibiòtics en la nostra microbiota intestinal, que a la vegada empitjoren la neurogènesi, el comportament o inclús ens pot fer desenvolupar malalties com l'OCD, es poden alleujar o revertir completament mitjançant la recuperació de la microbiota intestinal gràcies a l'administració de probiòtics. A continuació s'exposen més efectes positius dels probiòtics sobre l'ansietat, depressió o l'estrès.

6.2 Conseqüències de l'administració de probiòtics sobre la microbiota intestinal i els seus efectes sobre el SNC.

Els probiòtics són definits com microorganismes vius preferentment d'origen humà, que al ser ingerits en un nombre específic i suficient, confereixen efectes beneficiosos no específics en l'hoste (Caselli et al., 2013). Actualment són usats majoritàriament en desordres del sistema gastrointestinal, reconstruint a diferents nivells la barrera gastrointestinal.

6.2.1 Efectes ansiolítics i antidepressius de l'administració de probiòtics.

Messaoudi i cols (2011) van realitzar un estudi amb l'objectiu de demostrar l'efecte ansiolític d'una formulació de probiòtics formats per *Lactobacillus helveticus* R0052, que té propietats antiinflamatòries en cèl·lules epitelials d'intestí humà (Wallace et al., 2003) i l'eficàcia en activar la son en subjectes ancians (Yamamura et al., 2009) i *Bifidobacterium longum* R0175, que té propietats beneficioses en colitis ulcerativa en humans (Reports, 2009), degut a les evidències emergents sobre el paper important de la microbiota en el sistema nerviós central, això els va suggerir que la pressa oral d'aquests probiòtics podria oferir una millora psicològica. L'experiment es va realitzar amb rates de laboratori i voluntaris humans (Messaoudi et al., 2011). En els tests d'ansietat es va observar que les rates subministrades amb fórmula probiòtica (PF) responien millor que les que se'ls havia administrat placebo (PL), igualment que aquelles que se'ls havia administrat diazepam. Aquests resultats demostren les propietats ansiolítiques d'aquests compostos (Messaoudi et al., 2011). Es va observar que els subjectes als que se'ls havia administrat PF presentaven un índex de gravetat menor que els tractats amb placebo PL, degut a valors més baixos de Hopkins Symptom Checklist (HSCL, que mesura símptomes d'ansietat i depressió) per depressió, ràbia-hostilitat i somatització. A més, els tractats amb PF obtenien menors puntuacions en l'escala d'ansietat i depressió hospitalària (HADS) que els PL, que demostra un efecte potencial dels PF com a agents antiestrès i anti-ansietat. També es va observar que el grup PF disminueix "l'auto culpabilització" i augmenta la revaloració positiva. Els nivells de cortisol en el tractament PF van disminuir respecte als PL. Aquests efectes positius induïts pels probiòtics poden ser causats per la competició del nínxol amb altres microorganismes nocius i la seva exclusió posterior i la disminució de citoquines proinflamatòries. S'ha

demostrat que l'administració de *B. longum* R0175 incrementa el nombre de bifidobactèries en el tracte gastrointestinal en porcs (Messaoudi et al., 2011).

Es sap que *Clostridium* i *Bacteroides* spp. són productors d'àcids grassos de cadena curta, el que provoca que s'incrementi l'agressivitat i ansietat en animals, i encara que *L. helveticus* R0052 no ha estat mai posat en competició directa amb *Clostridium* sp., ha estat demostrat recentment que té un efecte protector en el tracte gastrointestinal en contra de la invasió de bacteris patogènics. En rosegadors s'ha observat que soques de *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* actuen com agents atenuants de respostes inflamatòries i també s'ha observat el mateix efecte en línies de cèl·lules humanes (Messaoudi et al., 2011).

Seguint en la mateixa línia, Rao i cols (2009) van dissenyar un estudi per comprovar l'eficàcia del probiòtic *Lactobacillus casei* sota Shirota (LcS) en alleujar els símptomes de depressió i ansietat en pacients amb el síndrome de fatiga crònica (CFS), ja que molts estudis recolzen que LcS té la capacitat de millorar l'estat d'ànim en humans adults i augmentar el nivell de triptòfan en el plasma, descendir les concentracions de metabòlits de serotonina en el còrtex prefrontal i disminuir també les concentracions del metabòlit de dopamina en el còrtex amigdalí (Benton et al., 2007; Desbonnet et al., 2008 & Rao et al., 2009).

Ja fa temps que existeix la idea d'implantar l'intestí amb *Lactobacillus* per millorar la qualitat de vida i la salut mental dels individus, doncs al 1910 el Dr. Phillips va anunciar que un sèrum de gelatina amb bacteries vives de l'àcid làctic millorava els símptomes depressius en adults amb melancolia (Phillips, 1910). Altres troballes suggereixen que l'administració d'acidòfils de la llet era recomanable en tractaments de psicosis com a mitjà per millorar físicament (Julianelle & Ebaugh, 1923). En dit treball s'ha trobat que l'administració de LcS causa un augment significatiu de *Bifidobacteria* spp. i *Lactobacillus* spp. fecals. L'augment de *Lactobacillus* era d'esperar, però el de *Bifidobacteria* suggereix que l'administració de LcS pot produir l'increment d'altres bacteris residents de l'intestí. Aquestes troballes també segueixen la línia d'un estudi que va demostrar que la presa oral de *Lactobacillus plantarum* 299 V causa un increment significatiu en els nivells de *Bifidobacteria* fecal (Johansson et al., 1998), això es considera positiu perquè en malalts de CFS els nivells de *Bifidobacteria* són baixos. Un altre estudi demostrà que una determinada soca de *Bifidobacteria* pot augmentar els nivells plasmàtics de triptòfan i alterar el recanvi de serotonina i dopamina en àrees del cervell associades a l'ansietat i la depressió (Desbonnet et al., 2008). En l'estudi anterior, aquells als qui se'ls hi va subministrar LcS van enregistrar una menor ansietat que aquells tractats amb control, i aquesta dada és molt important ja que l'ansietat és un símptoma mental freqüent en pacients amb CFS (Rao et al., 2009).

S'ha demostrat que petites dosis de microbis que no haurien de tenir efecte algun, en termes de resposta immune, tenen la capacitat d'induir respostes en diferents parts del cervell com en l'hipotàlem paraventricular, el nucli central de l'amígdala, el nucli del llit de l'estria terminal (Goehler et al., 2007), i les tres parts juguen un paper molt important en el processament de les emocions relacionades amb l'ansietat i l'estat d'ànim. Però també és vera que l'alteració de la composició de la flora intestinal pot ser deguda a l'estrès, por, pèrdua del control de la glucosa i obesitat (Bailey et al., 2006; Cani & Delzenne, 2007). Altres recerques han conclòs que elevacions específiques d'algunes *Clostridium* spp. estan relacionades amb alteracions intestinals en autistes, a més que aquest gènere bacterià

també està relacionat amb alteracions a nivell de cervell, on diverses investigacions demostren que la inflamació crònica intestinal deriva en l'activació de l'hipotàlem, amígdala i centre cortical (Parracho et al., 2005; Welch et al., 2005). Un altre treball demostra que altres bacteries patogèniques com *Clostridium*, poden ser desplaçades competitivament de l'intestí per *Lactobacillus* (Ramiah et al., 2008). Bactèries com *Clostridium* i *Bacteroides spp.* tenen la capacitat de produir un àcid gras de cadena curta que rep el nom de propiònic, està demostrat que altes concentracions d'aquest àcid pot induir ansietat i agressivitat (Hanstock et al., 2004). Es va comprovar en un estudi que LcS pot disminuir la concentració de propiònic en el cec (Ohashi et al., 2004 & Rao et al., 2009).

Amb el mateix objectiu d'identificar el possible efecte ansiolític, però en aquest cas del probiòtic *Bifidobacterium longum* NCC3001, Bercik i cols (2011) van realitzar un estudi per explorar els mecanismes de la comunicació intestí-cervell en condicions de sense infecció, infecció crònica i inflamació lleu de l'intestí, baix l'efecte del probiòtic.

La colitis DSS és un model molt ben descrit i validat com a colitis aguda i crònica per diversos estudis (Wirtz et al., 2007) i en dit estudi s'han investigat els efectes de tres cicles d'administració de dosis baixes de DSS en inflamacions intestinals, acompanyat d'un canvi comportamental en els ratolins. Es va demostrar que una colitis crònica-lleu de dextrà de sulfat de sodi (DSS) pot induir-li a la rata un estat d'ansietat, on es relaciona el nervi vague en aquesta comunicació intestí-cervell. En un experiment de la mateixa línia, on també es va infectar amb *Trichuris muris*, es va comprovar que *Bifidobacterium longum* NCC3001 era capaç de normalitzar el comportament en ratolins que patien colitis DSS sense veure's afectada la inflamació de l'intestí (Bercik et al., 2010). Cal dir que no es va observar un efecte directe en el sèrum dels ratolins tractats amb el probiòtic en l'expressió de mRNA de BDNF en cultius de cèl·lules del neuroblastoma. Seguint la línia de Bravo et al., (2011), es demostra que la integritat del nervi vague es clau per a que el probiòtic pugui dur a terme el seu efecte ansiolític, el que ens suggereix que les neurones entèriques funcionen com una via d'entrada al SNC (Bercik et al., 2011).

També es va demostrar, fent servir el paràsit no invasiu, *T. muris*, que una colitis moderada està associada amb ansietat, depressió i canvis en la bioquímica del cervell (Bercik et al., 2010). El tractament amb el probiòtic va ser capaç de mostrar una reducció i normalització del comportament alterat i un augment del comportament exploratori més alt inclús que les rates sanes control, però no va millorar el marcador de la inflamació ni l'activitat MPO. Això segueix la línia d'estudis previs on es demostra que aquest mateix probiòtic tenia la capacitat de millorar l'ansietat però no podia afectar positivament a la inflamació intestinal o a la circulació de citocines (Bercik et al., 2010 & Bercik et al., 2011).

Com s'ha vist que *B. longum* té la capacitat de regular positivament l'expressió hipocampal de BDNF (Bercik et al., 2010), es va estudiar com aquesta neurotrofina pot veure la seva expressió modificada en les cèl·lules neurals gràcies a la bactèria al produir molècules bioactives durant la fermentació. Per això es varen emprar cèl·lules del neuroblastoma humà diferenciades i incubades en sèrum de ratolins tractats amb el probiòtic i amb sèrum de ratolins control. En els resultats obtinguts no es va apreciar una diferència significativa en l'expressió de mRNA de BDNF en els dos tractaments, el que ens pot suggerir que es poc probable que aquest probiòtic tingui la capacitat d'augmentar la producció central de BDNF. Queda per estudiar si després del tractament amb *B. longum*, es produiria un efecte similar

amb els sèrums d'aquells animals que pateixin DSS colitis (Bercik et al., 2011). Dit estudi demostra que els productes resultants de la fermentació de *B. longum*, modifiquen l'estat funcional de les neurones entèriques. Els potencials d'acció en resposta a l'estimulació elèctrica van disminuir en gran mesura en nervis entèrics perfundits amb *B. longum* en medi de fermentació, indicant que els productes de fermentació del probiòtic modularen l'excitabilitat. Això ens indueix a pensar que existeix una comunicació a través dels nervis entèrics entre el probiòtic i el SNC. Estudis previs demostraren que altres probiòtics com *Lactobacillus reuteri* prevenien la hiperexcitabilitat de les neurones de gangli d'arrel dorsal (DRG), que inerven el còlon, a causa d'estímuls nocius (Ma et al., 2009) i l'alteració de l'excitabilitat basal de les neurones de l'AH del colon per via de la inhibició de canals de potassi dependents de calci (Kunze et al., 2009). En altres experiments s'ha demostrat que l'administració aguda intraduodenal de *Lactobacillus johnsonii* pot afectar a través de les vies histaminèrgiques, l'activitat del nervi vagal gàstric i del nervi simpàtic renal (Tanida et al., 2005). Però encara queda per determinar si els efectes descrits són deguts a l'estimulació dels terminals nerviosos vagals aferents extrínsecs o secundàriament a efectes en nervis entèrics intrínsecs (Bercik et al., 2011).

6.2.2 Efectes dels probiòtics en la prevenció del deteriorament del cervell causat per l'edat.

Distritti i cols (2014) van estudiar l'efecte potencial del probiòtic VSL#3 sobre el deteriorament causat per l'envelliment del cervell, tals com el deterior cognitiu, pèrdua de plasticitat o la progressió de certes malalties com l'Alzheimer i diverses esclerosis. El probiòtic VSL#3 està format per una mescla de 8 soques de bacteris Gram positives: *Streptococcus thermophilus* DSM24731, *Bifidobacterium breve* DSM24732, *Bifidobacterium longum* DSM24736, *Bifidobacterium infantis* DSM24737, *Lactobacillus acidophilus* DSM24735, *Lactobacillus plantarum* DSM24730, *Lactobacillus paracasei* DSM24733, *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus* DSM24734. Estudis han revelat que aquest probiòtic, en models animals, té la capacitat de reduir el dolor en hiperalgèsia visceral, i pot induir canvis en gens que codifiquen proteïnes amb papers nociceptius i inflamatoris, a més de poder regular condicions d'estrès (Distritti et al., 2013; Kim et al., 2003 & Mimura et al., 2004).

Amb la realització de *microarrays* es va poder observar que 333 gens, es a dir, aproximadament l'1,1% dels 30367 gens analitzats de teixit cortical, presenten diferències significatives entre les rates joves i velles. Comparant els grups control i tractament es va veure que en rates joves, les que van ser tractades amb el probiòtic, presenten 55 gens modificats més que les rates control, però 36 d'aquests gens eren regulats a la baixa, mentre que 19 eren regulats a l'alta. En canvi en les rates velles, hi va haver una diferència de 66 gens modificats entre les tractades respecte a les control, on 41 d'aquests gens foren regulats a la baixa mentre que 25 foren regulats a l'alta, això reflecteix la capacitat del probiòtic VSL#3 de potenciar aquesta reorganització genètica (Distritti et al., 2014).

Per saber si la plasticitat sinàptica es veia afectada pel subministrament de VSL#3, es va estimular elèctricament el gir dentat. Com es pot observar a la (Fig. 4), en les rates joves control i tractades es va poder apreciar un increment en el percentatge de la pendent del potencial excitatori postsinàptic de 122 i 136 % respectivament, durant els 10 minuts que va durar la prova. En canvi en les rates velles control aquest augment va ser menor, 98 %,

però en les rates velles tractades amb el probiòtic, el canvi es mantenia similar a les rates joves control 132,2%, demostrant així l'efecte atenuador del probiòtic (Distrutti et al., 2014).

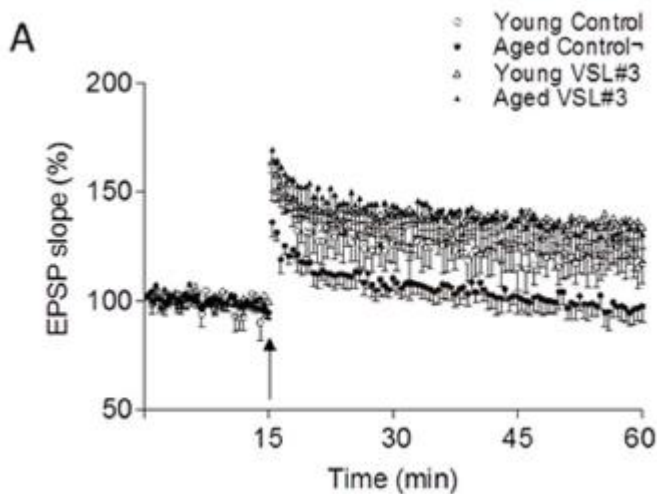


Fig. 4. Relació del potencial excitatori postsinàptic a causa de l'estimulació elèctrica al gir dentat expressat en % respecte el temps transcorregut a la prova als 4 tractaments (Distrutti et al., 2014).

A més el deteriorament de la potenciació a llarg termini (LTP) està relacionat amb una menor expressió de factors neurotròfics derivats del cervell (BDNF), el que condueix a una menor expressió de proteïnes sinàptiques. Una anàlisi de l'ARNm de BDNF va demostrar que el tractament amb VSL#3 aconseguia alleugerir la disminució de LTP com a conseqüència de l'edat (Distrutti et al., 2014). En dit estudi, es recolza el fet que el probiòtic VSL#3 té un efecte reorganitzador del genoma, quedant de manifest gràcies a tècniques com la bioinformàtica. Gens que són claus en inflamacions, com ho és el factor 7 de regulació d'interferons (*Irf7*), es va trobar regulat a l'alta. El gens que codifiquen per *Irf7* es troben regulats a la baixa en pacients que sofreixen depressions majors (Mamdani et al., 2011), fet que pot indicar un possible efecte atenuador de VSL3 en depressions. Mitjançant una RT-PCR es va poder confirmar canvis en l'expressió del gen *PLA2G3*. Aquest gen presenta una funció apoptòtica en les cèl·lules i s'ha hipotetitzat que podria provocar Alzheimer en el cas de que es sobreexpressi (Martínez-García et al., 2010), reflectint un efecte preventiu en contra de l'Alzheimer. També s'han trobat evidències de que VSL#3 té un efecte atenuant de la disminució del desenvolupament neuronal i la seva plasticitat com efecte de l'edat, ja que aquells que foren tractats amb el probiòtic van veure canviada l'expressió del gen que codifica per *Nid2*, que és una proteïna de membrana que disminueix amb l'edat i que la seva funció és la de prevenir l'acumulació de beta-amiloide i la de desestabilitzar fibril·les de beta-amiloide que s'hagin format (Hawkes et al., 2013). Així doncs, es podria evitar l'acumulació de plaques amiloides, que és un factor que promou l'Alzheimer. Un altre gen que el probiòtic és capaç de canviar la seva expressió és el que codifica per la proteïna *Alox15*, que està implicada en el desenvolupament d'Alzheimer (Zhao et al., 2014), tot això demostra un important paper d'aquest probiòtic com un possible producte que ajudi a prevenir dita malaltia. També s'ha demostrat l'efecte atenuador de VSL#3 sobre la disminució relacionada amb l'edat de LTP, el que condueix a un augment en les disfuncions cognitives en models d'Alzheimer (Distrutti et al., 2014).

6.2.3 Efectes de l'administració de probiòtics sobre el comportament.

Bravo i cols (2011) van realitzar un experiment per posar de manifest l'eficàcia de les bacteries làctiques, en concret *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) per a regular el comportament emocional i l'expressió de receptors centrals GABA en ratolins, a través del del nervi vague (Bravo et al., 2011). En les proves per avaluar el comportament relacionat amb la depressió, forçant-los a nedar, els animals als quals van administrar el probiòtic van demostrar perdre menys temps estant aturats que els control. També es va observar que aquells animals alimentats amb el probiòtic mostraven nivells de corticosterona induïda per estrès molt menors que les rates alimentades amb el brou control (Bravo et al., 2011). Aquest estudi demostra a més la capacitat del probiòtic *Lactobacillus rhamnosus* d'afectar directament a les respostes conductuals i fisiològiques, depenent del nervi vague. També modula l'expressió d'ARNm de GABA (Aa1, Aa2 i B1b), que estan implicats en l'ansietat. Es posa de manifest l'efecte psicològicament positiu sobre el SNC al veure's disminuïts els nivells de corticosterona induïts per l'estrès. S'havia demostrat que alteracions en l'eix HPA estaven relacionades amb el desenvolupament de desordres en l'estat d'ànim i en la composició de la microbiota intestinal (O'Mahony et al., 2009). S'ha demostrat que aquestes alteracions en l'eix HPA poden ser revertides gràcies al tractament amb *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*. Però l'important és que l'eix HPA és clau en la comunicació bidireccional entre el SNC i l'intestí, i pot ser modificat per canvis produïts en la microbiota intestinal. (Bravo et al., 2011).

S'acumulen evidències de que els receptors GABA metabotròpics juguen un paper molt important en el manteniment d'un comportament normal, a més, tenim estudis que afirmen que els receptors de GABA B són molt importants en desordres de l'estat d'ànim i l'ansietat (Cryan & Kaupmann, 2005). En el present treball, els nivells del mRNA de la subunitat GABA B1b, es van veure incrementats en l'àrea prefrontal del còrtex en aquells animals que van ser tractats amb el probiòtic. Si això ho comparem amb estudis que afirmen que els nivells d'expressió dels receptors de GABA B es veuen reduïts en el còrtex frontal en animals amb depressió (Cryan & Kaupmann, 2005), podem afirmar que *Lactobacillus rhamnosus* presenta efectes antiestressants. A més, les rates tractades amb el probiòtic mostraven una memòria potenciada en comparació d'aquelles rates tractades amb el brou control, això implica canvis a nivells d'amígdala i hipocamp (Brinks et al., 2009). L'amígdala és clau en la manifestació de la por, l'ansietat i la modulació dels components afectius de la percepció visceral, per això, trobarem nivells alts de mRNA GABA Aa2 en l'amígdala (Jacobson-Pick et al., 2008), per tant la reducció de receptors de GABA induïts pel probiòtic suggereix un efecte antiestrès per part de *Lactobacillus rhamnosus*. Altres estudis afirmen que la inactivació dels receptors de GABA B a l'hipocamp millora la memòria de treball espacial (Helm et al., 2005), així podem afirmar que la ingesta de *L. rhamnosus* produeix una millora en la memòria ja que en el present estudi s'observa una disminució del mRNA GABA B1b a l'hipocamp. (Bravo et al., 2011).

6.3 Efectes dels antibiòtics i probiòtics en el desenvolupament d'autisme.

L'autisme és un conjunt de trastorns neuro-conductuals caracteritzats per un comportament restrictiu i repetitiu, interaccions i comunicacions socials deteriorades (Fond et al., 2015 & Wang & Kasper, 2014). Molts estudis realitzats amb animals recolzen la idea del rol de la

microbiota intestinal en la patogènesi d'aquest desordre, mitjançant la comparació de les microbiotes intestinals de les mostres tractades amb moduladors de la flora intestinal i les control (Mangiola et al., 2016). S'ha demostrat que les mostres fecals de nins amb autisme presenten en la seva majoria bacteris del gènere *Clostridium* (Finegold et al., 2002; Song et al., 2004 & Parracho et al., 2005). En aquest cas la composició de la microbiota pateix un desequilibri entre els filos Bacteroidetes i Firmicutes, amb un increment del filo Bacteroidetes i altres comensals de l'intestí tals com els gèneres *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Sutterella*, *Prevotella*, *Ruminococcus* y la família Alcaligenaceae (Finegold et al., 2010; Adams et al., 2011; Kang et al., 2013; Wang et al., 2013 & Williams et al., 2012).

Bolte, (1998), observà que un percentatge significatiu dels individus amb autisme presentaven un historial clínic amb un ús extensiu d'antibiòtics, el que significava una important alteració en la microbiota intestinal protectora. Amb aquesta base va suggerir una possible relació entre una infecció aguda i crònica de tètanus del tracte intestinal i la patogènesi de símptomes d'autisme en alguns individus. Sandler i cols (2000), especularen que alteracions en la microbiota intestinal autòctona podia donar lloc a la colonització de l'intestí per part de bacteris amb la capacitat de produir neurotoxines, contribuint així a l'aparició de símptomes d'autisme. Per aquest motiu, van tractar a infants amb autisme d'aparició regressiva amb AB, i al final del tractament es van notar millories de curt termini (Mangiola et al., 2016). També s'ha estudiat la relació entre alteracions de la barrera intestinal i el desenvolupament d'autisme. Emanuele i cols (2010) va demostrar que el nivell de lipopolisacàrids (LPS) en el sèrum de pacients amb autisme era significativament més alt que els d'individus sans. Els LPS són petites molècules que tenen una influència molt important en la modulació del SNC, incrementant l'activitat de les àrees implicades en el control emocional tals com l'amígdala (Haba et al., 2012). També s'ha comprovat que augmenta la producció de citocines inflamatòries que alteren l'activitat fisiològica del cervell, modulant la síntesi de neuropèptids (Kastin et al., 2010). Aquestes evidències recolzen la importància del paper de la microbiota intestinal, i les conseqüències de l'alteració d'aquesta en la gènesi d'autisme.

Els antibiòtics són els fàrmacs més antics en ser usats per combatre malalties del tracte gastrointestinal, però el seu ús, normalment per combatre infeccions bacterianes, pot ocasionar alteracions en la microbiota intestinal, el que pot produir efectes secundaris com diarrea deguda a *Clostridium difficile* (Khanna & Pardi, 2010). Per altra banda, s'està enfocant la teràpia amb antibiòtics per tractar desordres com el síndrome del còlon irritable (IBS), en què la modulació de la flora intestinal condueix a una millora clínica (Mangiola et al., 2016). Actualment, les recerques intenten aclarir com la modulació de la microbiota intestinal pot afectar als desordres psiquiàtrics. S'ha demostrat que la reducció del LPS en el lumen de l'intestí deguda a antibiòtics, condueix a l'atenuació de la resposta a l'estrès de l'eix HPA i s'incrementa l'expressió de citocines proinflamatòries de l'hipotàlem (Ait-Belgnaoui et al., 2012). Altres estudis han demostrat que la minociclina té efectes positius en tractaments per a la depressió, ja que presenta activitat neuroprotectora i és capaç de regular els agents proinflamatoris (Soczynska et al., 2012 & Miyaoka et al., 2012). En un altre estudi, 11 infants afectats amb autisme, van ser tractats amb vancomicina. Després de les 8 setmanes de tractament es va poder observar una millora en els tests de comunicació i comportament (Sandler et al., 2000). Per aquests motius és possible especular que els tractaments amb antibiòtics, incidint sobre la microbiota intestinal, podrien ser efectius per tractar desordres psiquiàtrics tals com l'autisme (Mangiola et al., 2016).

També estan involucrats en la modulació de la resposta immune estimulants la producció de cèl·lules T, a més, incrementen l'expressió de mediadors antiinflamatoris com IL-10 i β -TGF β (Ng et al., 2008). Altres estudis han provat la capacitat dels probiòtics com a moduladors de l'ansietat, l'estat d'ànim i la depressió (Bravo et al., 2011). Finalment, Hsiao et al., (2013) demostrà que l'administració oral de *Bacteroides fragilis*, millorava alguns símptomes anímics tals com l'ansietat i comportament estereotípic en models animals, que està demostrat que juguen un paper molt important en el desenvolupament de l'autisme.

6.4 Importància del nervi vague com a via de transmissió dels efectes dels probiòtics i antibiòtics.

Com ja havien comprovat Leclercq i cols (2017), el nervi vague juga un paper molt important perquè es produeixin els efectes positius dels probiòtics, ja que a Bravo i cols (2011), les rates Vx, no aconseguen l'efecte ansiolític i antidepressiu del probiòtic. També canviava la concentració dels mRNAs de GABA A en l'amígdala i de GABA Aa1 en l'hipocamp. No obstant, Vx era capaç d'incrementar els nivells de mRNA GABA Aa2 a l'hipocamp, prevenint cap efecte que pogués tenir el probiòtic, recolzant les observacions de que canvis en l'hipocamp poden traduir-se en conseqüències indirectes dels canvis induïts per *Lactobacillus* en estructures que reben senyals sensorials directes que es poden projectar aferentment a l'hipocamp. A més s'ha comprovat que estimular el nervi vague en rates pot afectar a funcions de l'hipocamp (Zuo et al., 2007), i per tant Vx pot derivar en un canvi d'expressió del mRNA GABA Aa2 en l'hipocamp. Diversos estudis demostren que l'estimulació del nervi vague serveix per poder tractar alguns però no tots, els pacients amb depressions resistents a tractaments (Nemeroff et al., 2006; Grimm & Bajbouj, 2010), el que demostra la rellevància d'aquest nervi pel que fa el comportament. No es pot obviar que els animals Vx poden presentar canvis fisiològics a l'intestí, el que podria alterar indirectament les funcions de *Lactobacillus*. Encara que l'engreixament va ser similar en individus Vx i tractats amb placebo, i ja s'havia demostrat l'eficàcia de *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* com agents protectors contra la colitis en mamífers com els murins Vx (Kleij et al., 2008), el que vol dir que les accions anti-inflamatòries locals de l'intestí no són alterades. És important assenyalar que en aquest estudi només s'ha observat canvis a nivell de mRNA i no de proteïna, el que pot suposar una situació molt més complexa en la qual es vegin implicats altres sistemes de neurotransmissors i una varietat de cascades intracel·lulars que poden afectar als transcripts en les diferents àrees d'estudi (Bravo et al., 2011).

Això també s'observa a Bercik et al., (2011) on la integritat del nervi vague té un paper molt important en la inducció d'un comportament d'ansietat en ratolins amb colitis DSS. Això contrasta amb els resultats trobats en el mateix treball, on la inducció d'aquest comportament d'ansietat no estava regulat pel nervi vague. Això es pot explicar pels diferents patrons d'inducció d'inflamació del nervi vague, ja que la infecció crònica de *T. muris* es localitza en el cec i el còlon (Mahida, 2003; Panesar & Croll, 1980), la infecció de DSS es troba lligada a l'intestí prim (Ohtsuka & Sanderson, 2003). Estudis previs han demostrat que el nervi vague innerva el tracte proximal gastrointestinal (GI), mentre que l'intestí gros és innervat per menys d'aquestes fibres en ratolins (Andrews & Sanger, 2002), ja que és innervat per nervis espinals (Vizzard et al., 2000), per tant aquesta absència d'ansietat en animals Vx que foren tractats amb DSS pot ser degui a la falta de

senyalització amb l'intestí prim. Per aclarir-ho, es va realitzar la Vx abans d'aplicar el tercer cicle de DSS on el ratolí ja presentava ansietat amb només dos cicles. En aquest cas el tractament amb el probiòtic no va sorgir efecte en l'alleugeriment de l'ansietat, el que ens indica que el nervi vague té un paper imprescindible en l'efecte ansiolític. Per tant els resultats d'aquest estudi suggereixen que el nervi vague pot tenir un efecte ansiolític o inductor d'ansietat depenent de l'estímul que pateix, per exemple si se'l tracte amb el probiòtic o amb el DSS respectivament (Bercik et al., 2011).

6.5 Ressenya final.

S'han realitzat diversos estudis i són moltes les evidències recollides al llarg dels darrers anys dels efectes dels antibiòtics i probiòtics, sobre la nostra microbiota intestinal i aquesta a la vegada sobre el nostre SNC. I es podria deduir, que la presa d'antibiòtics com a prescripció mèdica per combatre malalties infeccioses com per exemple GABHS podria ser la causa que desencadeni el desenvolupament de desordres mentals com l'OCD, al provocar una disbiosi de la microbiota intestinal, tenint un efecte directe sobre el funcionament del SNC. També s'ha comprovat que el tractaments amb antibiòtics, a l'afectar a la composició de la microbiota intestinal, resulta en un deteriorament de la neurogènesi, i encara que no ha estat comprovat científicament s'ha hipotetitzat que això fos el desencadenant primitiu de malalties neurodegeneratives com ho són l'Alzheimer o el Parkinson. També s'han estudiat els efectes negatius de prendre AB en etapes primerenques de la vida tenint conseqüències a llarg termini com una disbiosi duradora i canvis en el còrtex frontal, el que resulta en un augment de l'agressivitat i de l'ansietat, i reducció de les interaccions socials. Per això es pensa que canvis en aquesta àrea del cervell podrien donar lloc a desenvolupar autisme i altres desordres neuropsiquiàtrics. Per altra part pareix que els probiòtics tenen un efecte contrari, ja que la seva capacitat de afavorir que la microbiota tornés a la seva composició original i a més de reforçar-la, era capaç d'alleugerar o disminuir els efectes anteriorment esmentats. També es va demostrar que tenen un paper antidepressiu, ansiolític i d'alleugerir els efectes deteriorants de l'edat sobre el cervell tot això gràcies a l'eix MIC. Això darrer ens suggereix que els probiòtics, al contrari que els antibiòtics, podrien tenir la capacitat de combatre malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer, ja que poden atenuar els efectes adversos de l'edat com la pèrdua de plasticitat sinàptica i la disminució del desenvolupament neuronal.

Cal recalcar la importància del nervi vague com a via de transmissió entre la microbiota intestinal i el SNC, ja que es va observar que tant els efectes positius dels probiòtics no tenien lloc en individus Vx, principal prova de la seva rellevància en el procés. Malgrat totes aquestes evidències encara no es pot afirmar que els problemes anteriorment esmentats siguin causa dels antibiòtics ni tampoc que la solució sigui prendre probiòtics, ja que hi ha un punt en el que tots els investigadors coincideixen en els seus estudis, i és que els efectes negatius dels antibiòtics a llarg o curt termini i l'eficàcia dels probiòtics s'ha d'investigar molt més, i sobre tot en humans en estudis clínics ja que la majoria de la informació es pressa d'estudis en models murins i malgrat siguin molt semblants als humans, no es poden extrapolar al 100 % els resultats obtinguts en ells, sinó servien només com una guia. S'ha recorregut molt de camí des de que es té evidència del paper vital que juga la microbiota intestinal en el correcte funcionament del SNC, però encara queda molta feina per fer.

7. Conclusions

1. Els antibiòtics tenen la capacitat de produir una desregulació en la microbiota intestinal, el que tindria efectes a nivell del SNC, produint canvis en el nostre comportament, estat anímic, patiment d'estrès, empobrint la neurogènesi i fent-nos més susceptibles a patir malalties neurodegeneratives com l'Alzheimer.
2. Els probiòtics poden facilitar la recuperació de la composició original de la nostra microbiota, el que reduiria o eliminaria els efectes adversos dels antibiòtics.
3. El paper del nervi vague és essencial per a que es produeixin els efectes positius probiòtics respectivament en el SNC.

8. Agraïments

En primer lloc voldria agrair a la meva tutora del Treball Fi de Grau, la Dra. Jerònia Lladó Vich, per haver-me proposat aquest tema tant interessant i de gran rellevància en la nostra societat, sobre el qual no n'havia sentit parlar mai i del que n'he pogut aprendre molt, i sobretot per la seva ajuda inestimable en la realització del mateix. A la meva família i amics els quals m'han recolzat i animat a seguir en els pitjors moments no només en el present treball sinó també durant aquests quatre anys, fent el camí més lleuger. Sense tots ells no hagués arribat tant lluny. Moltes gràcies a tots.

9. Bibliografia

1. Adams, J. B., Johansen, L. J., Powell, L. D., Quig, D., & Rubin, R. A. (2011). Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism—comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC gastroenterology*, 11(1), 22.
2. Ait-Belgnaoui, A., Durand, H., Cartier, C., Chaumaz, G., Eutamene, H., Ferrier, L., ... & Theodorou, V. (2012). Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 37(11), 1885-1895.
3. Ait-Belgnaoui, A., Colom, A., Braniste, V., Ramalho, L., Marrot, A., Cartier, C., ... & Tompkins, T. (2014). Probiotic gut effect prevents the chronic psychological stress-induced brain activity abnormality in mice. *Neurogastroenterology & Motility*, 26(4), 510-520.
4. Andrews, P. L., & Sanger, G. J. (2002). Abdominal vagal afferent neurones: an important target for the treatment of gastrointestinal dysfunction. *Current opinion in pharmacology*, 2(6), 650-656.
5. Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., ... & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the national academy of sciences*, 101(44), 15718-15723.
6. Bailey, M. T., Engler, H., & Sheridan, J. F. (2006). Stress induces the translocation of cutaneous and gastrointestinal microflora to secondary lymphoid organs of C57BL/6 mice. *Journal of neuroimmunology*, 171(1-2), 29-37.
7. Bailey, M. T., Dowd, S. E., Galley, J. D., Hufnagle, A. R., Allen, R. G., & Lyte, M. (2011). Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. *Brain, behavior, and immunity*, 25(3), 397-407.
8. Barcenilla, A., Pryde, S. E., Martin, J. C., Duncan, S. H., Stewart, C. S., Henderson, C., & Flint, H. J. (2000). Phylogenetic relationships of butyrate-producing bacteria from the human gut. *Applied and environmental microbiology*, 66(4), 1654-1661.
9. Benton, D., Williams, C., & Brown, A. (2007). Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *European journal of clinical nutrition*, 61(3), 355.
10. Bercik, P., Verdu, E. F., Foster, J. A., Macri, J., Potter, M., Huang, X., ... & Lu, J. (2010). Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice. *Gastroenterology*, 139(6), 2102-2112.
11. Bercik, P., Park, A. J., Sinclair, D., Khoshdel, A., Lu, J., Huang, X., ... & Berger, B. (2011). The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterology & Motility*, 23(12), 1132-1139.
12. Bercik, P., Denou, E., Collins, J., Jackson, W., Lu, J., Jury, J., ... & Verdu, E. F. (2011). The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology*, 141(2), 599-609.
13. Bercik, P., & Collins, S. M. (2014). The effects of inflammation, infection and antibiotics on the microbiota-gut-brain axis. In *microbial endocrinology: the microbiota-gut-brain axis in health and disease* (pp. 279-289). Springer, New York, NY.
14. Blanchard, R. J., Griebel, G., Farrokhi, C., Markham, C., Yang, M., & Blanchard, D. C. (2005). AVP V1b selective antagonist SSR149415 blocks aggressive behaviors in hamsters. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 80(1), 189-194.
15. Bolte, E. R. (1998). Autism and *Clostridium tetani*. *Medical hypotheses*, 51(2), 133-144.
16. Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., ... & Cryan, J. F. (2011). Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201102999.
17. Brinks V, de Kloet ER, Oitzl MS (2009) Corticosterone facilitates extinction of fear memory in BALB/c mice but strengthens cue related fear in C57BL/6 mice. *Experimental Neurology* 216:375–382.
18. Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2007). Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 10(6), 729-734.
19. Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M. A., & Severi, C. (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of gastroenterology: quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 28(2), 203.
20. Caselli, M., Cassol, F., Calò, G., Holton, J., Zuliani, G., & Gasbarrini, A. (2013). Actual concept of "probiotics": Is it more functional to science or business?. *World journal of gastroenterology: WJG*, 19(10), 1527.

21. Cerf-Bensussan, N., & Gaboriau-Routhiau, V. (2010). The immune system and the gut microbiota: friends or foes?. *Nature Reviews Immunology*, 10(10), 735.
22. Chai, G., Governale, L., McMahon, A. W., Trinidad, J. P., Staffa, J., & Murphy, D. (2012). Trends of outpatient prescription drug utilization in US children, 2002–2010. *Pediatrics*, peds-2011.
23. Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R. D., Shanahan, F., ... & Cryan, J. F. (2013). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Molecular psychiatry*, 18(6), 666.
24. Collins, S. M., Surette, M., & Bercik, P. (2012). The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature Reviews Microbiology*, 10(11), 735.
25. Cox, L. M., Yamanishi, S., Sohn, J., Alekseyenko, A. V., Leung, J. M., Cho, I., ... & Rodriguez, J. G. Z. (2014). Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences. *Cell*, 158(4), 705-721.
26. Cryan, J. F., & Kaupmann, K. (2005). Don't worry 'B'happy!: a role for GABAB receptors in anxiety and depression. *Trends in pharmacological sciences*, 26(1), 36-43.
27. Cryan, J. F., & O'mahony, S. M. (2011). The microbiome- gut- brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterology & Motility*, 23(3), 187-192.
28. 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.
29. Deltheil, T., Guiard, B. P., Cerdan, J., David, D. J., Tanaka, K. F., Repérant, C., ... & Gardier, A. M. (2008). Behavioral and serotonergic consequences of decreasing or increasing hippocampus brain-derived neurotrophic factor protein levels in mice. *Neuropharmacology*, 55(6), 1006-1014.
30. Desbonnet, L., Garrett, L., Clarke, G., Bienenstock, J., & Dinan, T. G. (2008). The probiotic *Bifidobacteria infantis*: an assessment of potential antidepressant properties in the rat. *Journal of psychiatric research*, 43(2), 164-174.
31. Desbonnet, L., Clarke, G., Shanahan, F., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2014). Microbiota is essential for social development in the mouse. *Molecular psychiatry*, 19(2), 146.
32. Desbonnet, L., Clarke, G., Traplin, A., O'Sullivan, O., Crispie, F., Moloney, R. D., ... & Cryan, J. F. (2015). Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: implications for brain and behaviour. *Brain, behavior, and immunity*, 48, 165-173.
33. Deshmukh, H. S., Liu, Y., Menkiti, O. R., Mei, J., Dai, N., O'leary, C. E., ... & Worthen, G. S. (2014). The microbiota regulates neutrophil homeostasis and host resistance to *Escherichia coli* K1 sepsis in neonatal mice. *Nature medicine*, 20(5), 524.
34. Distrutti, E., Cipriani, S., Mencarelli, A., Renga, B., & Fiorucci, S. (2013). Probiotics VSL# 3 protect against development of visceral pain in murine model of irritable bowel syndrome. *PloS one*, 8(5), e63893.
35. Distrutti, E., O'Reilly, J. A., McDonald, C., Cipriani, S., Renga, B., Lynch, M. A., & Fiorucci, S. (2014). Modulation of intestinal microbiota by the probiotic VSL# 3 resets brain gene expression and ameliorates the age-related deficit in LTP. *PloS one*, 9(9), e106503.
36. Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... & Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *science*, 308(5728), 1635-1638.
37. Emanuele, E., Orsi, P., Boso, M., Broglio, D., Brondino, N., Barale, F., ... & Politi, P. (2010). Low-grade endotoxemia in patients with severe autism. *Neuroscience letters*, 471(3), 162-165.
38. Finegold, S. M., Molitoris, D., Song, Y., Liu, C., Vaisanen, M. L., Bolte, E., ... & Collins, M. D. (2002). Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clinical Infectious Diseases*, 35(Supplement_1), S6-S16.
39. Finegold, S. M., Dowd, S. E., Gontcharova, V., Liu, C., Henley, K. E., Wolcott, R. D., ... & Liu, M. (2010). Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*, 16(4), 444-453.
40. Fond, G., Boukouaci, W., Chevalier, G., Regnault, A., Eberl, G., Hamdani, N., ... & Oliveira, J. (2015). The "psychomicrobiotic": Targeting microbiota in major psychiatric disorders: A systematic review. *Pathologie Biologie*, 63(1), 35-42.
41. Forsythe, P., Kunze, W., & Bienenstock, J. (2016). Moody microbes or fecal phrenology: what do we know about the microbiota-gut-brain axis?. *BMC medicine*, 14(1), 58.
42. Fröhlich, E. E., Farzi, A., Mayerhofer, R., Reichmann, F., Jačan, A., Wagner, B., ... & Kashofer, K. (2016). Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain, behavior, and immunity*, 56, 140-155.
43. Gilbert, D. L., & Kurlan, R. (2009). PANDAS Horse or zebra?. *Neurology*, 73(16), 1252-1253.

44. Goehler, L. E., Lyte, M., & Gaykema, R. P. (2007). Infection-induced viscerosensory signals from the gut enhance anxiety: implications for psychoneuroimmunology. *Brain, behavior, and immunity*, 21(6), 721-726.
45. Gordon, S., & Taylor, P. R. (2005). Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature Reviews Immunology*, 5(12), 953.
46. Grayson, M. L., Cosgrove, S. E., Crowe, S., Hope, W., McCarthy, J. S., Mills, J., ... & Paterson, D. L. (2017). *Kucers' The Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, -Three Volume Set*. CRC Press.
47. Grimm S, Bajbouj M (2010) Efficacy of vagus nerve stimulation in the treatment of depression. *Expert Rev Neurother* 10:87–92.
48. Haba, R., Shintani, N., Onaka, Y., Wang, H., Takenaga, R., Hayata, A., ... & Hashimoto, H. (2012). Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. *Behavioural brain research*, 228(2), 423-431.
49. Hanstock, T. L., Clayton, E. H., Li, K. M., & Mallet, P. E. (2004). Anxiety and aggression associated with the fermentation of carbohydrates in the hindgut of rats. *Physiology & behavior*, 82(2-3), 357-368.
50. Hawkes, C. A., Gatherer, M., Sharp, M. M., Dorr, A., Yuen, H. M., Kalaria, R., ... & Carare, R. O. (2013). Regional differences in the morphological and functional effects of aging on cerebral basement membranes and perivascular drainage of amyloid- β from the mouse brain. *Aging cell*, 12(2), 224-236.
51. Hayashi, H., Sakamoto, M., & Benno, Y. (2002). Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture-based methods. *Microbiology and immunology*, 46(8), 535-548.
52. Heijtz, R. D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., ... & Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7), 3047-3052.
53. Helm, K. A., Haberman, R. P., Dean, S. L., Hoyt, E. C., Melcher, T., Lund, P. K., & Gallagher, M. (2005). GABAB receptor antagonist SGS742 improves spatial memory and reduces protein binding to the cAMP response element (CRE) in the hippocampus. *Neuropharmacology*, 48(7), 956-964.
54. Hooper, L. V., Wong, M. H., Thelin, A., Hansson, L., Falk, P. G., & Gordon, J. I. (2001). Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*, 291(5505), 881-884.
55. Hsiao, E. Y., McBride, S. W., Hsien, S., Sharon, G., Hyde, E. R., McCue, T., ... & Patterson, P. H. (2013). Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155(7), 1451-1463.
56. Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J. H., Chinwalla, A. T., ... & Giglio, M. G. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207.
57. Jacobson-Pick, S., Elkobi, A., Vander, S., Rosenblum, K., & Richter-Levin, G. (2008). Juvenile stress-induced alteration of maturation of the GABAA receptor α subunit in the rat. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 11(7), 891-903.
58. Jané-Llopis, E. (2004). La eficacia de la promoción de la salud mental y la prevención de los trastornos mentales. *Revista de la Asociación Española de Neuropsiquiatría*, (89), 67-77.
59. Jernberg, C., Löfmark, S., Edlund, C., & Jansson, J. K. (2007). Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *The ISME journal*, 1(1), 56.
60. Johansson, M. L., Nobaek, S., Berggren, A., Nyman, M., Björck, I., Ahrne, S., ... & Molin, G. (1998). Survival of *Lactobacillus plantarum* DSM 9843 (299v), and effect on the short-chain fatty acid content of faeces after ingestion of a rose-hip drink with fermented oats. *International journal of food microbiology*, 42(1-2), 29-38.
61. Julianelle LA, Ebaugh FG: Implantation of *Bacillus Acidophilus* in persons with psychoses. *Arch Neurol Psychiatr* 1923, 9:769-777.
62. Kang, D. W., Park, J. G., Ilhan, Z. E., Wallstrom, G., LaBaer, J., Adams, J. B., & Krajmalnik-Brown, R. (2013). Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PloS one*, 8(7), e68322.
63. Kastin, A., & Pan, W. (2010). Concepts for biologically active peptides. *Current pharmaceutical design*, 16(30), 3390-3400.
64. Kempermann, G., Song, H., & Gage, F. H. (2015). Neurogenesis in the adult hippocampus. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(9), a018812.
65. Khanna, S., & Pardi, D. S. (2010). The growing incidence and severity of *Clostridium difficile* infection in inpatient and outpatient settings. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 4(4), 409-416.

66. Khosravi, A., Yáñez, A., Price, J. G., Chow, A., Merad, M., Goodridge, H. S., & Mazmanian, S. K. (2014). Gut microbiota promote hematopoiesis to control bacterial infection. *Cell host & microbe*, *15*(3), 374-381.
67. Kim, H. J., Camilleri, M., McKinzie, S., Lempke, M. B., Burton, D. D., Thomforde, G. M., & Zinsmeister, A. R. (2003). A randomized controlled trial of a probiotic, VSL# 3, on gut transit and symptoms in diarrhoea- predominant irritable bowel syndrome. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, *17*(7), 895-904.
68. Koebnick, C., Wagner, I., Leitzmann, P., Stern, U., & Zunft, H. J. (2003). Probiotic beverage containing *Lactobacillus casei* Shirota improves gastrointestinal symptoms in patients with chronic constipation. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *17*(11), 655-659.
69. Krych, Ł., Nielsen, D. S., Hansen, A. K., & Hansen, C. H. F. (2015). Gut microbial markers are associated with diabetes onset, regulatory imbalance, and IFN- γ level in NOD mice. *Gut microbes*, *6*(2), 101-109.
70. Kunze, W. A., Mao, Y. K., Wang, B., Huizinga, J. D., Ma, X., Forsythe, P., & Bienenstock, J. (2009). *Lactobacillus reuteri* enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium- dependent potassium channel opening. *Journal of cellular and molecular medicine*, *13*(8b), 2261-2270.
71. Leclercq, S., Mian, F. M., Stanisz, A. M., Bindels, L. B., Cambier, E., Ben-Amram, H., ... & Bienenstock, J. (2017). Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior. *Nature Communications*, *8*, 15062.
72. Löfmark, S., Jernberg, C., Billström, H., Andersson, D. I., & Edlund, C. (2008). Restored fitness leads to long-term persistence of resistant *Bacteroides* strains in the human intestine. *Anaerobe*, *14*(3), 157-160.
73. Logan, A. C., & Katzman, M. (2005). Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy. *Medical hypotheses*, *64*(3), 533-538.
74. Lyte, M. (2011). Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays*, *33*(8), 574-581.
75. Ma, X., Mao, Y. K., Wang, B., Huizinga, J. D., Bienenstock, J., & Kunze, W. (2009). *Lactobacillus reuteri* ingestion prevents hyperexcitability of colonic DRG neurons induced by noxious stimuli. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, *296*(4), G868-G875.
76. Mahida, Y. R. (2003). Host–parasite interactions in rodent nematode infections. *Journal of helminthology*, *77*(2), 125-131.
77. Mangiola, F., Ianiro, G., Franceschi, F., Fagioli, S., Gasbarrini, G., & Gasbarrini, A. (2016). Gut microbiota in autism and mood disorders. *World journal of gastroenterology*, *22*(1), 361.
78. Martínez-García, A., Sastre, I., Recuero, M., Aldudo, J., Vilella, E., Mateo, I., Sánchez-Juan, P., Vargas, T., Carro, E., Bermejo-Pareja, F., Rodríguez-Rodríguez, E., Combarros, O., Rosich-Estrago, M., Frank, A., Valdivieso, F & Bullido, MJ. (2010). PLA2G3, a gene involved in oxidative stress induced death, is associated with Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, *22*(4), 1181-1187.
79. Martino, D., Defazio, G., & Giovannoni, G. (2009). The PANDAS subgroup of tic disorders and childhood-onset obsessive–compulsive disorder. *Journal of psychosomatic research*, *67*(6), 547-557.
80. Mayer, E. A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut–brain communication. *Nature Reviews Neuroscience*, *12*(8), 453.
81. Mayer, E. A., Knight, R., Mazmanian, S. K., Cryan, J. F., & Tillisch, K. (2014). Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. *Journal of Neuroscience*, *34*(46), 15490-15496.
82. Mayer, E. A., Savidge, T., & Shulman, R. J. (2014). Brain–gut microbiome interactions and functional bowel disorders. *Gastroenterology*, *146*(6), 1500-1512.
83. Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdi, A., ... & Cazaubiel, J. M. (2011). Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *British Journal of Nutrition*, *105*(5), 755-764.
84. Mimura, T., Rizzello, F., Helwig, U., Poggioli, G., Schreiber, S., Talbot, I. C., ... & Kamm, M. A. (2004). Once daily high dose probiotic therapy (VSL# 3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut*, *53*(1), 108-114.
85. Miyaoka, T., Wake, R., Furuya, M., Liaury, K., Ieda, M., Kawakami, K., ... & Horiguchi, J. (2012). Minocycline as adjunctive therapy for patients with unipolar psychotic depression: an open-label study. *Progress in neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *37*(2), 222-226.
86. Möhle, L., Mattei, D., Heimesaat, M. M., Bereswill, S., Fischer, A., Alutis, M., ... & Wolf, S. A. (2016). Ly6Chi monocytes provide a link between antibiotic-induced changes in gut microbiota and adult hippocampal neurogenesis. *Cell reports*, *15*(9), 1945-1956.

87. Morgun, A., Dzutsev, A., Dong, X., Greer, R. L., Sexton, D. J., Ravel, J., ... & Shulzhenko, N. (2015). Uncovering effects of antibiotics on the host and microbiota using transkingdom gene networks. *Gut*, gutjnl-2014.
88. Mostafa, S., & Miller, B. J. (2014). Antibiotic-associated psychosis during treatment of urinary tract infections: a systematic review. *Journal of clinical psychopharmacology*, 34(4), 483-490.
89. Nemeroff, C. B., Mayberg, H. S., Krahl, S. E., McNamara, J., Frazer, A., Henry, T. R., ... & Brannan, S. K. (2006). VNS therapy in treatment-resistant depression: clinical evidence and putative neurobiological mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 31(7), 1345.
90. Neufeld, K. M., Kang, N., Bienenstock, J., & Foster, J. A. (2011). Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterology & Motility*, 23(3), 255-e119.
91. Ng, S. C., Hart, A. L., Kamm, M. A., Stagg, A. J., & Knight, S. C. (2008). Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflammatory bowel diseases*, 15(2), 300-310.
92. Noecker, C., McNally, C. P., Eng, A., & Borenstein, E. (2017). High-resolution characterization of the human microbiome. *Translational Research*, 179, 7-23.
93. Ohashi, Y., Tokunaga, M., & Ushida, K. (2004). The effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota on the cecal fermentation pattern depends on the individual cecal microflora in pigs. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 50(6), 399-403.
94. Ohtsuka, Y., & Sanderson, I. R. (2003). Dextran sulfate sodium—Induced inflammation is enhanced by intestinal epithelial cell chemokine expression in mice. *Pediatric research*, 53(1), 143.
95. O'Mahony, S. M., Marchesi, J. R., Scully, P., Codling, C., Ceolho, A. M., Quigley, E. M., ... & Dinan, T. G. (2009). Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biological psychiatry*, 65(3), 263-267.
96. Panesar, T. S., & Croll, N. A. (1980). The location of parasites within their hosts: site selection by *Trichuris muris* in the laboratory mouse. *International journal for parasitology*, 10(4), 261-273.
97. Parracho, H. M., Bingham, M. O., Gibson, G. R., & McCartney, A. L. (2005). Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *Journal of medical microbiology*, 54(10), 987-991.
98. Phillips, J. G. P. (1910). The treatment of melancholia by the lactic acid bacillus. *Journal of Mental Science*, 56(234), 422-430.
99. Pryde, S. E., Duncan, S. H., Hold, G. L., Stewart, C. S., & Flint, H. J. (2002). The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS microbiology letters*, 217(2), 133-139.
100. Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S., & Medzhitov, R. (2004). Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell*, 118(2), 229-241.
101. Ramiah, K., van Reenen, C. A., & Dicks, L. M. (2008). Surface-bound proteins of *Lactobacillus plantarum* 423 that contribute to adhesion of Caco-2 cells and their role in competitive exclusion and displacement of *Clostridium sporogenes* and *Enterococcus faecalis*. *Research in microbiology*, 159(6), 470-475.
102. Rao, A. V., Bested, A. C., Beaulne, T. M., Katzman, M. A., Iorio, C., Berardi, J. M., & Logan, A. C. (2009). A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut pathogens*, 1(1), 6.
103. Rashid, M. U., Weintraub, A., & Nord, C. E. (2012). Effect of new antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Anaerobe*, 18(2), 249-253.
104. Rees, J. C. (2014). Obsessive-compulsive disorder and gut microbiota dysregulation. *Medical hypotheses*, 82(2), 163-166.
105. Rhee, S. H., Pothoulakis, C., & Mayer, E. A. (2009). Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 6(5), 306.
106. Sandler, R. H., Finegold, S. M., Bolte, E. R., Buchanan, C. P., Maxwell, A. P., Väisänen, M. L., ... & Wexler, H. M. (2000). Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *Journal of child neurology*, 15(7), 429-435.
107. Schuch, J. J., Roest, A. M., Nolen, W. A., Penninx, B. W., & De Jonge, P. (2014). Gender differences in major depressive disorder: results from the Netherlands study of depression and anxiety. *Journal of affective disorders*, 156, 156-163.
108. Sjlund, M., Wreiber, K., Andersson, D. I., Blaser, M. J., & Engstrand, L. (2003). Long-term persistence of resistant *Enterococcus* species after antibiotics to eradicate *Helicobacter pylori*. *Annals of internal medicine*, 139(6), 483-487.
109. Slykerman, R. F., Thompson, J., Waldie, K. E., Murphy, R., Wall, C., & Mitchell, E. A. (2017). Antibiotics in the first year of life and subsequent neurocognitive outcomes. *Acta Paediatrica*, 106(1), 87-94.

110. Snider, L. A., & Swedo, S. E. (2004). PANDAS: current status and directions for research. *Molecular Psychiatry*, 9(10), 900.
111. Soczynska, J. K., Mansur, R. B., Brietzke, E., Swardfager, W., Kennedy, S. H., Woldeyohannes, H. O., ... & McIntyre, R. S. (2012). Novel therapeutic targets in depression: minocycline as a candidate treatment. *Behavioural brain research*, 235(2), 302-317.
112. Song, Y., Liu, C., & Finegold, S. M. (2004). Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. *Applied and environmental microbiology*, 70(11), 6459-6465.
113. Sonnenburg, J. L., Angenent, L. T., & Gordon, J. I. (2004). Getting a grip on things: how do communities of bacterial symbionts become established in our intestine?. *Nature immunology*, 5(6), 569.
114. Stappenbeck, T. S., Hooper, L. V., & Gordon, J. I. (2002). Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(24), 15451-15455.
115. Stokholm, J., Schjørring, S., Eskildsen, C. E., Pedersen, L., Bischoff, A. L., Følsgaard, N., ... & Jacobsson, B. (2014). Antibiotic use during pregnancy alters the commensal vaginal microbiota. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(7), 629-635.
116. Suau, A., Bonnet, R., Sutren, M., Godon, J. J., Gibson, G. R., Collins, M. D., & Doré, J. (1999). Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Applied and environmental microbiology*, 65(11), 4799-4807.
117. Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X. N., ... & Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *The Journal of physiology*, 558(1), 263-275.
118. Sullivan, Å., Edlund, C., & Nord, C. E. (2001). Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *The Lancet infectious diseases*, 1(2), 101-114.
119. Swedo, S. E., Leonard, H. L., Garvey, M., Mittleman, B., Allen, A. J., Perlmutter, S., ... & Dubbert, B. K. (2004). Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections: clinical description of the first 50 cases. *Focus*, 155(3), 264-506.
120. Tanida, M., Yamano, T., Maeda, K., Okumura, N., Fukushima, Y., & Nagai, K. (2005). Effects of intraduodenal injection of *Lactobacillus johnsonii* La1 on renal sympathetic nerve activity and blood pressure in urethane-anesthetized rats. *Neuroscience letters*, 389(2), 109-114.
121. Tannock, G. W., & Savage, D. C. (1974). Influences of dietary and environmental stress on microbial populations in the murine gastrointestinal tract. *Infection and immunity*, 9(3), 591-598.
122. Tempera, G., Furneri, P. M., Cianci, A., Incognito, T., Marano, M. R., & Drago, F. (2009). The impact of prulifloxacin on vaginal *Lactobacillus* microflora: an in vivo study. *Journal of Chemotherapy*, 21(6), 646-650.
123. Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B., ... & Mayer, E. A. (2013). Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*, 144(7), 1394-1401.
124. Tsigos, C., & Chrousos, G. P. (2002). Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research*, 53(4), 865-871.
125. Van der Kleij, H., O'Mahony, C., Shanahan, F., O'Mahony, L., & Bienenstock, J. (2008). Protective effects of *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium infantis* in murine models for colitis do not involve the vagus nerve. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295(4), R1131-R1137.
126. Vizzard, M. A., Brisson, M., & de Groat, W. C. (2000). Transneuronal labeling of neurons in the adult rat central nervous system following inoculation of pseudorabies virus into the colon. *Cell and tissue research*, 299(1), 9-26.
127. Wallace, T. D., Bradley, S., Buckley, N. D., & Green-Johnson, J. M. (2003). Interactions of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: effects on cytokine production. *Journal of Food Protection*, 66(3), 466-472.
128. Wang, L., Christophersen, C. T., Sorich, M. J., Gerber, J. P., Angley, M. T., & Conlon, M. A. (2013). Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. *Molecular autism*, 4(1), 42.
129. Wang, X., Heazlewood, S. P., Krause, D. O., & Florin, T. H. J. (2003). Molecular characterization of the microbial species that colonize human ileal and colonic mucosa by using 16S rDNA sequence analysis. *Journal of applied microbiology*, 95(3), 508-520.
130. Wang, Y., & Kasper, L. H. (2014). The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain, behavior, and immunity*, 38, 1-12.

131. Welch, M. G., Welch-Horan, T. B., Anwar, M., Anwar, N., Ludwig, R. J., & Ruggiero, D. A. (2005). Brain effects of chronic IBD in areas abnormal in autism and treatment by single neuropeptides secretin and oxytocin. *Journal of Molecular Neuroscience*, 25(3), 259-274.
132. Wersinger, S. R., Ginns, E. I., O'carroll, A. M., Lolait, S. J., & Young lii, W. S. (2002). Vasopressin V1b receptor knockout reduces aggressive behavior in male mice. *Molecular psychiatry*, 7(9), 975.
133. Williams, B. L., Hornig, M., Parekh, T., & Lipkin, W. I. (2012). Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of *Sutterella* species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances. *MBio*, 3(1), e00261-11.
134. Wirtz, S., Neufert, C., Weigmann, B., & Neurath, M. F. (2007). Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nature protocols*, 2(3), 541.
135. Wolburg, H., & Lippoldt, A. (2002). Tight junctions of the blood–brain barrier: development, composition and regulation. *Vascular pharmacology*, 38(6), 323-337.
136. Wolf, S. A., Melnik, A., & Kempermann, G. (2011). Physical exercise increases adult neurogenesis and telomerase activity, and improves behavioral deficits in a mouse model of schizophrenia. *Brain, behavior, and immunity*, 25(5), 971-980.
137. Yamamura, S., Morishima, H., Kumano-Go, T., Suganuma, N., Matsumoto, H., Adachi, H., ... & Takano, T. (2009). The effect of *Lactobacillus helveticus* fermented milk on sleep and health perception in elderly subjects. *European journal of clinical nutrition*, 63(1), 100.
138. Zhao, Y., Bhattacharjee, S., Jones, B. M., Hill, J., Dua, P., & Lukiw, W. J. (2014). Regulation of neurotropic signaling by the inducible, NF- κ B-sensitive miRNA-125b in Alzheimer's disease (AD) and in primary human neuronal-glia (HNG) cells. *Molecular neurobiology*, 50(1), 97-106.
139. Zuniga-Pflucker, J. C. (2001). 8. Materials and methods are available as supporting material on Science Online. 9. B. Silva-Santos, DJ Pennington, AC Hayday, *Science* 307, 925 (2005). 10. J. Kang, A. Volkman, DH Raulet, *J. Exp. Med.* 193. *Nat. Immunol.* 2, 691.
140. Zuo, Y., Smith, D. C., & Jensen, R. A. (2007). Vagus nerve stimulation potentiates hippocampal LTP in freely-moving rats. *Physiology & behavior*, 90(4), 583-589.