

RAPORT NAUKOWY

INTEGRAL BIOTICS® EASYMIND™



SPIS TREŚCI

03 OŚ MÓZGOWO-JELITOWA

A. UKŁAD NERWOWY

B. UKŁAD NEUROENDOKRYNNY

C. UKŁAD ODPORNOŚCIOWY

D. SZLAK METABOLICZNY

07 JAK DZIAŁA EASYMIND?

BADANIA KLINICZNE Z UDZIAŁEM
14 EASYMIND

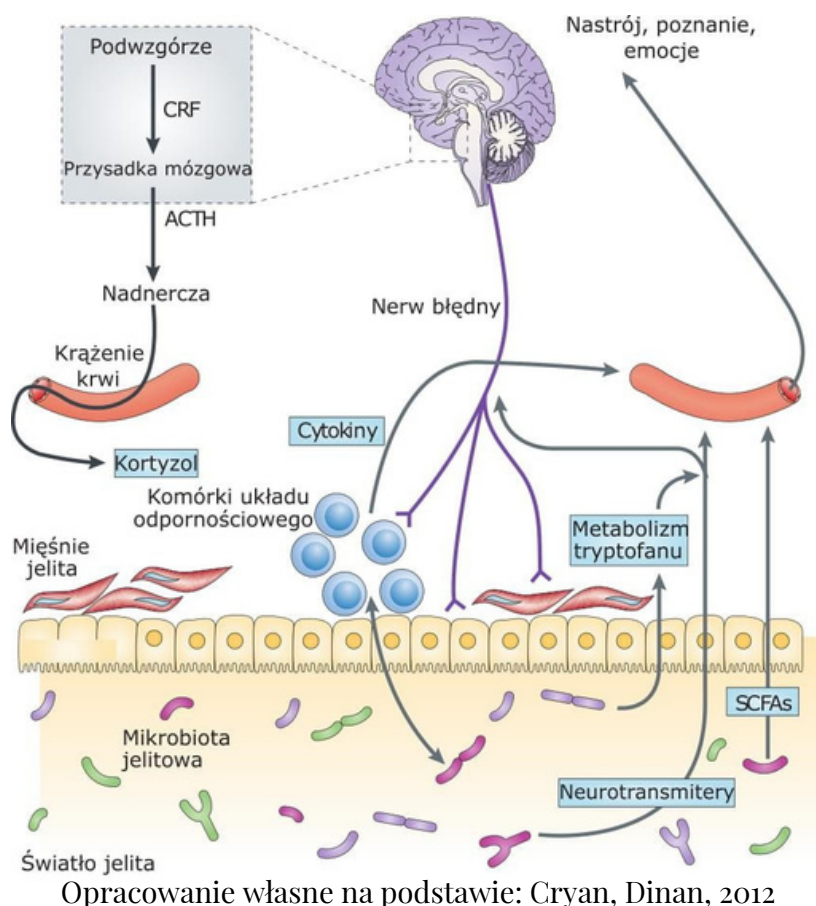
19 PODSUMOWANIE

20 BIBLIOGRAFIA

OŚ MÓZGOWO-JELITOWA

Oś mózgowo-jelitowa to dwukierunkowy system komunikacji, który integruje sygnalizację neuronalną, hormonalną, immunologiczną oraz metaboliczną między jelitami a mózgiem (Mayer, 2011). Informacje o aktywności nerwowej bądź hormonalnej, a także zmianach w mikrobiocie są dostarczane do mózgu poprzez nerw błędny, który jest bezpośrednim połączeniem pomiędzy mózgiem a jelitami (Forsythe i wsp., 2014).

Termin „oś jelito-mózg” opisuje koncepcję zintegrowanej fizjologii, która obejmuje wzajemną komunikację pomiędzy ośrodkowym układem nerwowym a układem pokarmowym poprzez sygnały nerwowe, endokrynologiczne, metaboliczne i immunologiczne. Mechanizmy, za pomocą których bakterie uzyskują dostęp do mózgu i wpływają na zachowanie, obejmują: produkty bakteryjne, które docierają do mózgu za pośrednictwem krwiobiegu i area postrema; uwalnianie cytokin z komórek odpornościowych błony śluzowej jelit; produkcję hormonów i neuroprzekaźników (takich jak serotonina) z komórek enteroendokrynych lub poprzez aferentne drogi nerwowe, w tym nerw błędny (Collins i wsp., 2012).



UKŁAD NERWOWY

Mikrobiom działa poprzez jelitowy układ nerwowy (enteric nervous system, ENS), który reguluje funkcje przewodu pokarmowego oraz neurony aferentne nerwu błędnego, które przekazują informacje czuciowe z wewnątrz organizmu do ośrodkowego układu nerwowego. ENS jest największym i najbardziej złożonym obszarem obwodowego i autonomicznego układu nerwowego. Zawiera wiele różnych typów neuronów w ilości porównywalnej do rdzenia kręgowego oraz szereg neuromodulatorów podobnych do tych występujących w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) (Sasselli i wsp., 2012). Zarówno nerw błędny, jak i modulacja ogólnoustrojowych poziomów tryptofanu są silnie związane z wpływem mikroflory jelitowej na mózg.

Bakterie mają zdolność do sekrecji wielu neuroprzekaźników i neuromodulatorów. Stwierdzono, że poszczególne szczepy bakterii psychobiotycznych posiadają zdolność wytwarzania serotoniny, dopaminy, acetylocholinę czy GABA (Barrett i wsp., 2012; Lyte, 2011; Matur, Eraslan, 2012). Psychobiotyki modulują stężenie receptorów opioidowych i kannabinoidowych w nabłonku jelita (Rousseaux i wsp., 2007). Prawdopodobnym jest, że wydzielane neuroprzekaźniki drobnoustrojów w świetle jelita mogą indukować komórki nabłonka do uwalniania cząsteczek, które z kolei modulują sygnalizację neuronalną w obrębie jelitowego układu nerwowego lub działają bezpośrednio na pierwotne aksony aferentne (Forsythe, Kunze, 2012).

UKŁAD NEUROENDOKRYNNY

W obrębie szlaku neuroendokrynnego mikrobiom jelitowy odgrywa kluczową rolę w rozwoju i regulacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (oś HPA), która ma kluczowe znaczenie dla prawidłowej odpowiedzi na stres. Z drugiej strony, komórki endokrynologiczne wydzielają neuroprzekaźniki w odpowiedzi na bodźce świetlne, działające jako przetworniki dla drogi jelitowo-endokrynno-OUN (Rhee i wsp., 2009).

Oś HPA reguluje wydzielanie kortyzolu, który może wpływać na komórki odpornościowe (w tym wydzielanie cytokin pro- i przeciwzapalnych) zarówno lokalnie w jelicie, jak i ogólnoustrojowo. Kortyzol może również wpływać na przepuszczalność jelit i funkcjonowanie bariery jelitowej oraz zmieniać skład mikrobioty jelitowej (Cryan, Dinan, 2012).

Oprócz zmiany składu mikroflory jelitowej istotnym jest, że przewlekły stres niszczy również barierę jelitową, czyniąc ją nieszczelną i zwiększając poziom krążących immunomodulujących składników ściany komórkowej bakterii, takich jak lipopolisacharyd (LPS) (Santos i wsp., 2001; Soderholm, Perdue, 2001). Efekty te można odwrócić za pomocą produktów probiotycznych (Ait-Belgnaoui i wsp., 2012; Zareie i wsp., 2006). Zgodnie z powyższymi odkryciami, badania na ludziach wykazały również zwiększoną translokację bakterii w zaburzeniach psychicznych związanych ze stresem, takich jak zaburzenia depresyjne czy lękowe (Maes i wsp., 2012).

Podejścia zastosowane do wyjaśnienia roli mikrobioty jelitowej w zachowaniu i poznaniu obejmują wykorzystanie zwierząt hodowanych w sterylnych warunkach (germ-free), zwierząt z patogennymi infekcjami bakteryjnymi oraz zwierząt narażonych na działanie probiotyków lub antybiotyków (Cryan, O'Mahony, 2011). Większość z tych badań podkreśla rolę mikrobioty w modulowaniu reakcji na stres i regulowaniu zachowań związanych ze stresem, które są istotne dla zaburzeń psychicznych, takich jak lęk i depresja (Cryan, Dinan, 2012).

UKŁAD ODPORNOŚCIOWY

Układ immunologiczny jest niezależnym mechanizmem sygnalizacji pomiędzy mikrobiomem, jelitami, a OUN. Komunikacja immunologiczna z OUN odbywa się za pośrednictwem ogólnoustrojowego krążenia czynników immunologicznych, co ma związek z zaburzeniami neuropsychiatrycznymi, takimi jak depresja. Mikrobiota odgrywa ważną rolę w regulacji układu odpornościowego poprzez działanie przeciwzapalne, które może przeciwdziałać objawom chorób OUN o podłożu immunologicznym (Berer, Krishnamoorthy, 2012). Mikrobiota jelitowa i probiotyki mają zdolność regulacji poziomu krążących cytokin, co może mieć istotny wpływ na funkcjonowanie mózgu (Cryan, Dinan, 2012).

Mikrobiota i produkty probiotyczne mogą mieć bezpośredni wpływ na działanie układu odpornościowego (Duerkop, Vaishnava, Hooper, 2009; Forsythe, Bienenstock, 2010). Rzeczywiście, odporność wrodzona oraz nabyta współpracują ze sobą w celu utrzymania homeostazy na wewnętrznej powierzchni jelita, co ma kluczowe znaczenie dla utrzymania dobrego zdrowia (Duerkop i wsp., 2009). Układ odpornościowy również dwukierunkowo komunikuje się z OUN (Dantzer i wsp., 2008; Sternberg, 2006), co czyni go głównym celem transdukcji wpływu bakterii na OUN. Ponadto pośredni wpływ mikrobioty jelitowej i probiotyków na wrodzony układ odpornościowy obejmuje zmiany w stężeniu krążących cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych, które bezpośrednio wpływają na funkcjonowanie mózgu (Cryan, Dinan, 2012).

SZLAK METABOLICZNY

Bakterie jelitowe modulują różne reakcje metaboliczne gospodarza, powodując wytwarzanie metabolitów, takich jak wtórne kwasy żółciowe, cholina czy krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, które są niezbędne dla optymalnego zdrowia gospodarza (Nicholson i wsp., 2012). Rzeczywiście, złożone węglowodany, takie jak błonnik pokarmowy, mogą być trawione, a następnie fermentowane w okrężnicy przez mikroorganizmy jelitowe do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, takich jak n-maślan, octan i propionian, o których wiadomo, że mają właściwości neuroaktywne i mogą modulować mózg i zachowanie (Gundersen, Blendy, 2009; MacFabe i wsp., 2011; Thomas i wsp., 2012).

JAK DZIAŁA EASYMIND™?

Wykazano, że probiotyki mają szersze zastosowanie terapeutyczne niż wcześniej uważano.

Szczepy bakteryjne pochodzące z mikrobioty jelitowej są składnikami odpowiedzialnymi za sygnalizację mikrobiota-jelita-OUN. Niektóre szczepy bakterii mają zdolność sekrecji różnych neuroprzekaźników potrzebnych do regulacji wielu procesów psychologicznych. Wykazano, że bakterie zawarte w Integral Biotics EasyMind™ mają zdolność wytwarzania: GABA, dopaminy oraz acetylocholiny, co może pomóc pacjentom cierpiącym z powodu zaburzeń psychicznych, takich jak depresja czy stany lękowe.

➔ GABA (kwas γ -aminomasłowy) jest głównym neuroprzekaźnikiem hamującym w OUN i odgrywa kluczową rolę w regulacji wielu procesów fizjologicznych i psychologicznych. Od dawna już wiemy, że dysfunkcja ośrodkowego układu GABA-ergicznego jest związana z zaburzeniami lękowymi (Lydiard, 2003; Möhler, 2012; Nemeroff, 2003; Nutt, Malizia, 2001). GABA, jako element patogenezy lęku i depresji, odpowiada za wiele objawów tych zaburzeń (Kalueff, Nutt, 2007). Aktywacja układu GABA-ergicznego ma działanie zarówno przeciwłękowe, jak i przeciwdepresyjne u zwierząt i ludzi. Dla odmiany, zmniejszona aktywność tego neuroprzekaźnika konsekwentnie koreluje z lękiem i depresją. Te zjawiska wyraźnie wskazują na kluczową rolę, jaką GABA odgrywa w obu psychopatologiach, a także, że produkty wpływające na receptory GABA-A mogą być przydatne w leczeniu zarówno lęku, jak i depresji. (Kalueff, Nutt, 2007).

➔ Dopamina jest złożonym neuroprzekaźnikiem, który może powodować różne problemy zdrowotne, jeśli jego poziom jest zbyt wysoki lub zbyt niski (Worley, 2017) Niektóre z ważnych funkcji, w których odgrywa swoją rolę dopamina, obejmują ruch, pamięć, odczuwanie przyjemności, uwagę, nastrój, sen, zachowanie i funkcje poznawcze, a także regulację poziomu prolaktyny (Calabresi i wsp., 2007).

Nadmiernie niski poziom tego neuroprzekaźnika wiąże się z deficytami uwagi, dezorganizacją myślenia, słabą koncentracją, depresją. Zgodnie z niniejszym, zaobserwowano, że niższe poziomy dopaminy są związane z objawami zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD) (Wu i wsp., 2012).

Kolejno pojawiające się dane powiązały również dysfunkcję układu dopaminowego z patofizjologią depresji (Chaudhury i wsp., 2013). To serotonina jest neuroprzekaźnikiem tradycyjnie powiązanym z patofizjologią depresji, widać to zwłaszcza w badaniach farmakologicznych leków przeciwdepresyjnych, których celem jest układ serotoninowy lub wychwyt zwrotny serotoniny w OUN. Jednak wiele objawów obserwowanych w depresji – takich jak anhedonia i brak motywacji – okazuje się być nawet silniej związanych z dysfunkcjami w układzie dopaminowym (Eschel i wsp., 2016; Grace, 2016; Pandit i wsp., 2016). Doniesiono, że niedobór dopaminy byłby również induktorem zachowań lękowych (DeGroot i wsp., 2020).



Acetylocholina jest neuroprzekaźnikiem występującym w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym. Acetylocholina pełni w organizmie liczne funkcje. Można ją znaleźć we wszystkich neuronach ruchowych, gdzie stymuluje mięśnie do skurczu (Sam, Bordoni, 2021). Od ruchów żołądka do mrugnięcia okiem, każda aktywność w ciele wiąże się z aktywnością tego kluczowego neuroprzekaźnika.

Acetylocholina występuje również w wielu neuronach mózgu i odgrywa kluczową rolę w procesach umysłowych, takich jak pamięć, uczenie się i zdolności poznawcze (Picciotto i wsp., 2012). Działa również w różnych miejscach OUN, gdzie funkcjonuje jako neuroprzekaźnik i neuromodulator. Odgrywa ważną rolę w motywacji, pobudzeniu seksualnym, uwadze, uczeniu się i pamięci, a także promowaniu snu REM (Picciotto i wsp., 2012).

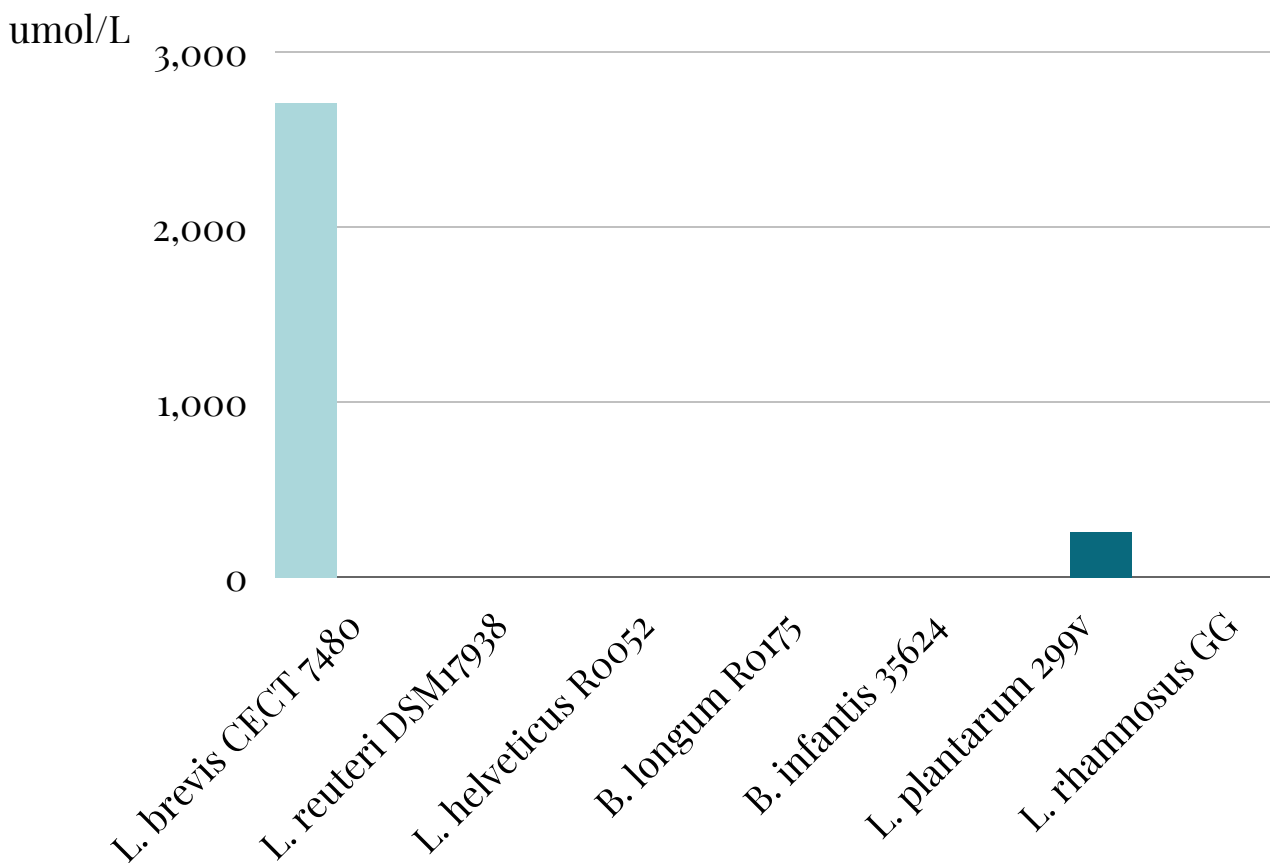
Ponadto, przepuszczalność jelit także jest bezpośrednio i pośrednio związana z rolą mikrobiomu w zaburzeniach OUN. Humoralna i komórkowa reakcja immunologiczna na mikrobiotę w krążeniu, utrzymujące się stany zapalne o niskim stopniu nasilenia oraz współistniejące choroby neuropsychiatryczne mogą wskazywać na naruszenie bariery nabłonkowej błony śluzowej jelit (Maes i wsp., 2012; Severance i wsp., 2013).

Mikrobiota i bakteryjne ligandy w postaci granulek polifosforanowych utrzymują połączenia międzykomórkowe krytyczne dla integralności bariery jelitowej i zmniejszają patogenezę OUN (Segawa i wsp., 2011).

Nasi partnerzy przeprowadzili szereg analiz wśród swoich kolekcji kultur bakterii, a także najbardziej popularnych szczepów psychobiotycznych na rynku, w celu wyselekcjonowania najlepszych kandydatów bakteryjnych o najwyższej produkcji neuroprzekazników GABA, dopaminy i acetylocholin. Wybrano dwa szczepy gatunku *Lactobacillus*:

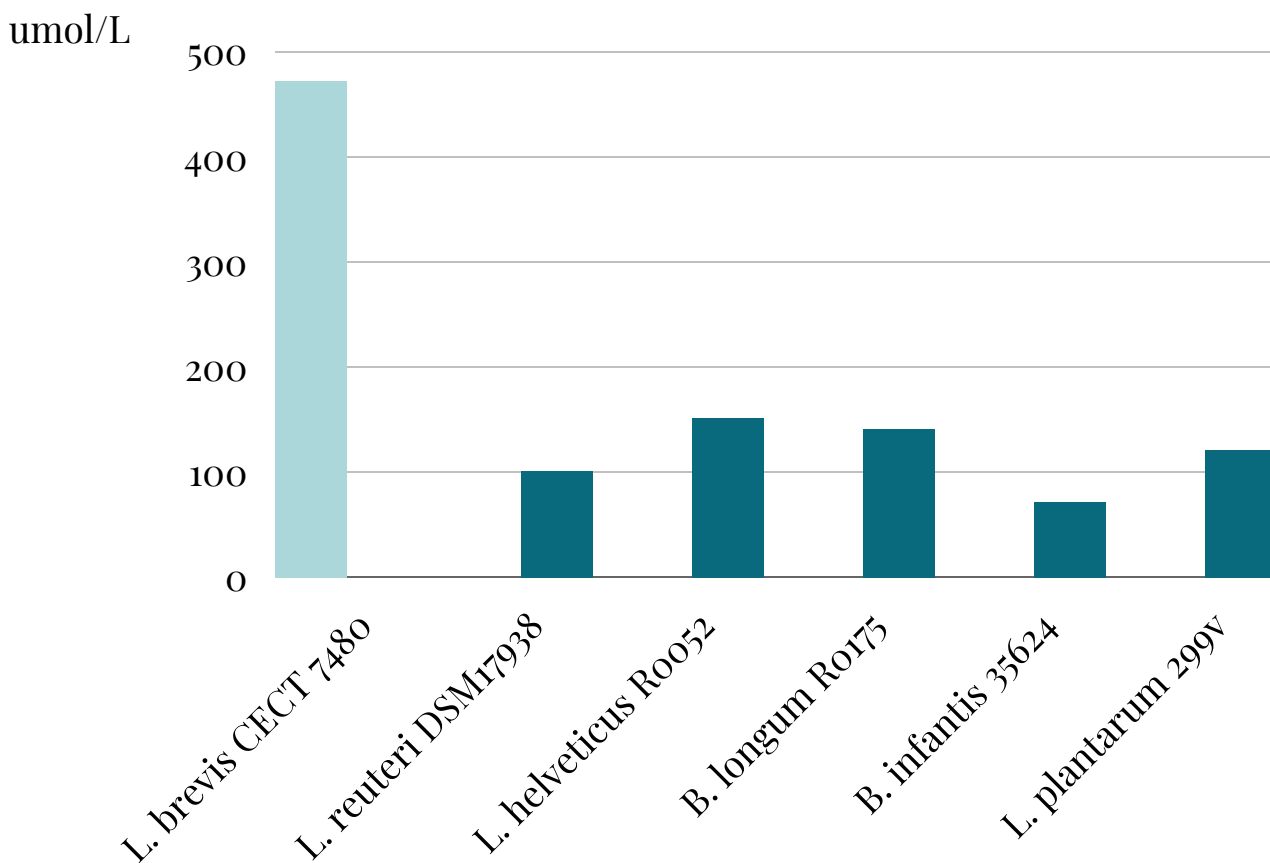
-*Lactobacillus brevis* CECT 7480: Stwierdzono, że wytwarza najwyższe ilości GABA i dopaminy spośród kilku dobrze znanych psychobiotyków, które stosowano jako grupy kontrolne (*L. rhamnosus* GG, *B. longum/infantis* 35624, *L. reuteri* DSM17938, *L. helveticus* Ro052 i *B. longum* Ro175). *L. helveticus* Ro052 i *B. longum* Ro175 to bardzo dobrze znane szczepy zawarte w Probio'Stick firmy Lallemand Health Solutions - najlepiej przebadanym psychobiotykiem na świecie.

PRODUKCJA GABA PRZEZ EASYMIND™



GABA jest głównym hamującym neuroprzekaźnikiem we współczulnym układzie nerwowym i ma działanie przeciwdepresyjne, hipotensyjne i przeciwcukrzycowe u ludzi (Wu i wsp., 2018). Doustne przyjmowanie GABA wiąże się z obniżonym odczuwanym stresem i lepszą zdolnością do skupienia się na ważnych zadaniach (Mazzoli, Pessione, 2016), a obfitość bakterii wytwarzających GABA w ludzkich jelitach jest negatywnie skorelowana z sygnaturami mózgu związanymi z depresją (Strandwitz i wsp., 2016). Dlatego też GABA klasyfikuje się jako bioaktywny składnik żywności i farmaceutyków.

PRODUKCJA DOPAMINY PRZEZ EASYMIND™

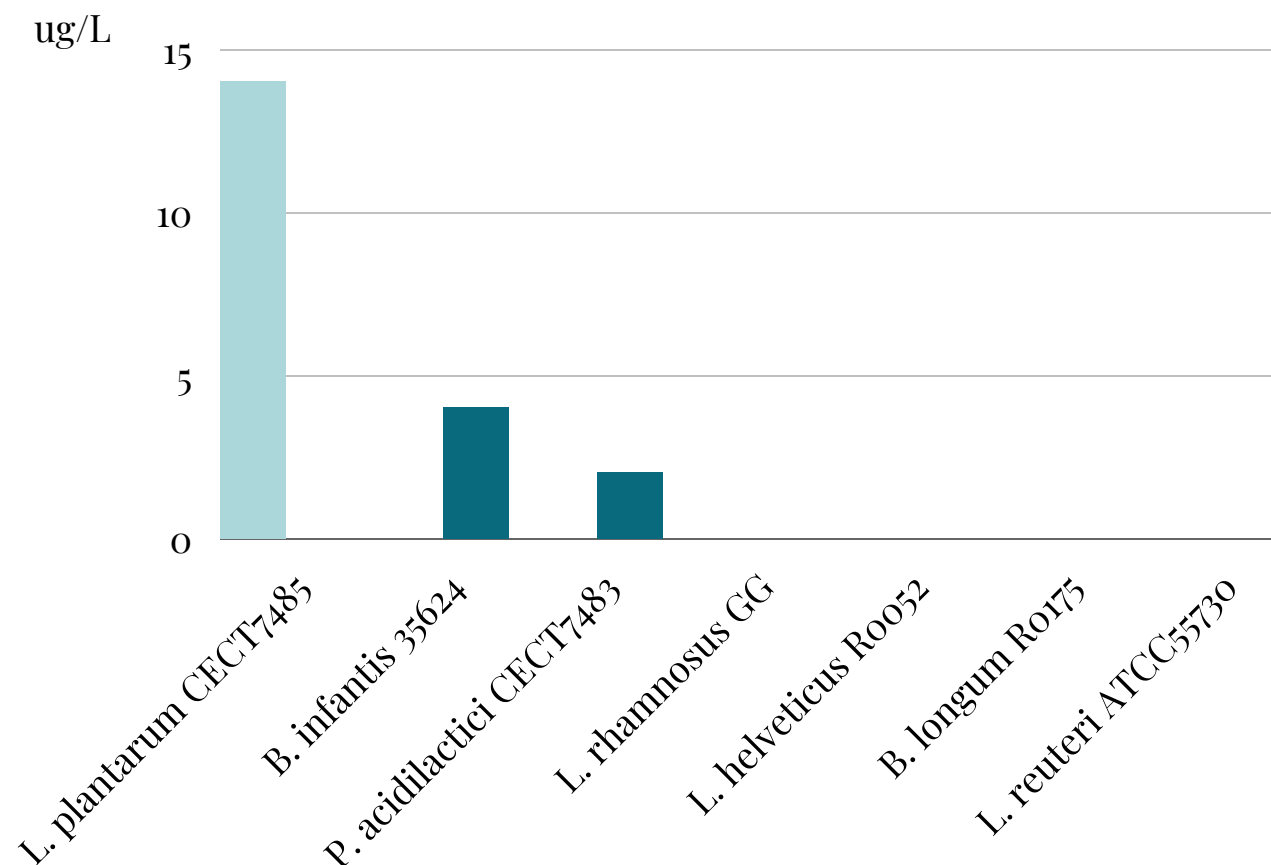


Łagodzenie stanu zapalnego jest jednym z mechanizmów działania psychobiotyków, które zazwyczaj obserwuje się poprzez zmniejszenie stężenia krążących prozapalnych cytokin (Sarkar i wsp., 2016). Cytokiny prozapalne są również zdolne do zwiększania przepuszczalności bariery krew-mózg, umożliwiając do niego dostęp potencjalnym jednostkom patogennym.

Cytokiny zmieniają stężenie kilku neuroprzekaźników, które regulują komunikację w mózgu, w tym serotoniny, dopaminy i glutaminianu (Sarkar i wsp., 2016). Biorąc powyższe pod uwagę, wybraliśmy ten szczep również ze względu na wysoką produkcję dopaminy- neuroprzekaźnika, który reguluje wiele procesów, w tym motywację, nagradzanie i uzależnienie. Zaburzenia OUN, takie jak depresja, lęk, schizofrenia, choroba afektywna dwubiegunowa i choroba Parkinsona, zostały powiązane z rozregulowaniem systemu dopaminowego (Berk i wsp., 2007, Weintraub i wsp., 2005).

- *Lactobacillus plantarum* CECT 7485: Ten szczep został wyselekcjonowany ze względu na jego zdolność do wytwarzania wysokiego poziomu acetylocholino. Oprócz jej dobrze znanego wpływu na kurczliwość mięśni (poprzez receptory muskarynowe), acetylocholina jest głównym neuroprzekaźnikiem przeciwzapalnym w błonie śluzowej jelit, działającym poprzez cholinergiczny szlak przeciwzapalny, mechanizm eferentny oparty na nerwie błędnym (Rosas-Ballina, Tracey, 2009).

PRODUKCJA ACETYLOCHOLINY PRZEZ EASYMIND™



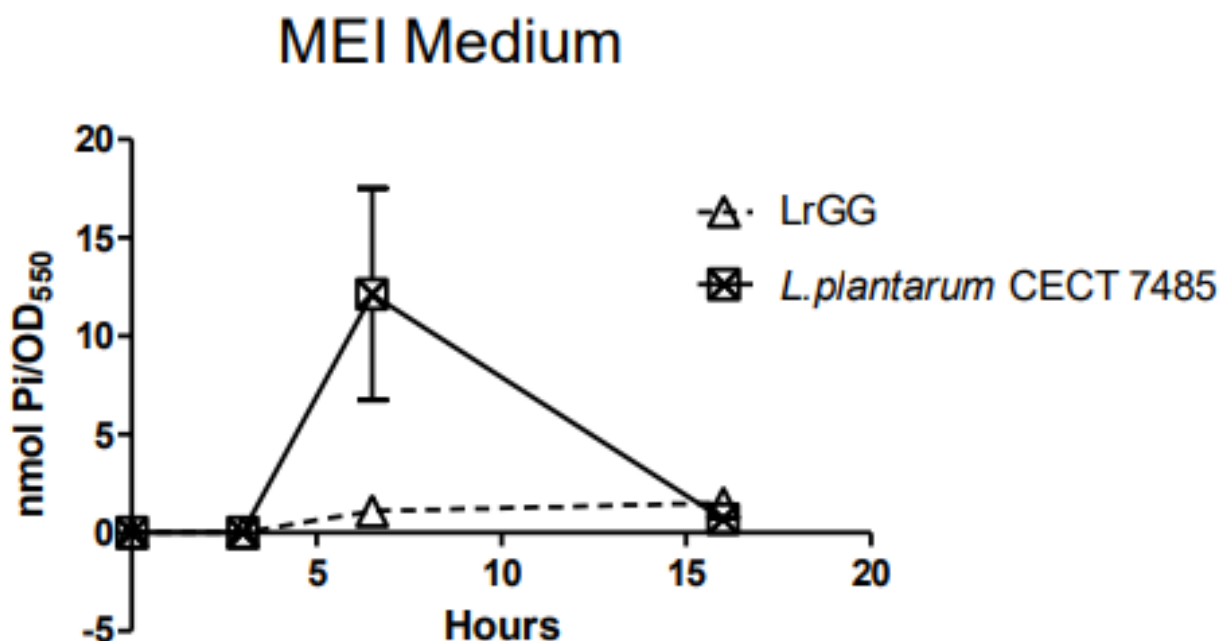
W cholinergicznym szlaku przeciwzapalnym, ramię eferentne odruchu zapalnego składa się z nerwu błędnego, neuroprzekaźnika acetylocholinę oraz podjednostki $\alpha 7$ nikotynowego receptora acetylocholinę. Acetylocholina osłabia wytwarzanie TNF, IL-1 β , IL6 i IL-18 przez ludzkie makrofagi na etapie potranskrypcyjnym, co wskazuje na hamujący wpływ acetylocholinę na wytwarzanie prozapalnych cytokin (Borovikova i wsp., 2000).

Stymulacja nerwu błędnego wywiera działanie przeciwzapalne dzięki acetylocholinę, która jest obecnie stosowana w terapii odpornej na leczenie depresji, bólu, a także epilepsji (Sarkar i wsp., 2016). Dlatego probiotyki (psychobiotyki), które mają wysoką produkcję tego neuroprzekaźnika, są pożyteczne dzięki wywieranemu działaniu przeciwzapalnemu poprzez modulację nerwu błędnego, uzupełniając jednocześnie działanie leków przeciwdepresyjnych i przeciwłękowych (Sarkar i wsp., 2016). Co więcej, neuroinflamację coraz częściej powiązuje się z problemami z pamięcią, szczególnie w chorobie Alzheimera, a zakłócenia obwodów cholinergiczných najprawdopodobniej są przynajmniej częściowo odpowiedzialne za zaburzenia poznawcze obserwowane w zaburzeniach neurodegeneracyjnych (Maurer, Williams, 2017). Wykazano, że degeneracja szlaku cholinergicznego i niedobór acetylocholinę zagrażają życiu w tworzeniu objawów choroby Alzheimera (Nimgampalle, Kuna, 2017; Terry, Buccafusco, 2003).

Ponadto, *L. plantarum* CECT 7485 zawiera również granulki polifosforanowe. Polifosforany nieorganiczne (poli-P) składają się z liniowych łańcuchów złożonych z setek cząsteczek fosforanów połączonych wiązaniami fosfobezwodnikowymi. Ich obecność w bakteriach kwasu mlekowego jest cechą specyficzną dla szczepu o dużej zmienności między różnymi szczepami i uważa się, że pomaga niektórym szczepom radzić sobie ze stresem oksydacyjnym i osmotycznym (Alcantara i wsp., 2014). Wykazano *in vitro* i *in vivo*, że uwalnianie rozpuszczalnych granulek poli-P do podłoża wzmacnia funkcję bariery i zmniejsza reakcje zapalne w nabłonku jelita (Kashima i wsp., 2015; Segawa i wsp., 2011). Szczegółowe badania wykazały, że efekt jest zależny od wychwytywania rozpuszczalnego poli-P w błonie komórkowej za pośrednictwem integryny $\beta 1$, a następnie endocytozy za pośrednictwem kaweoliny-1.

Skutkuje to cytoochronnymi efektami MAPK p38 w komórkach nabłonka, takimi jak indukcja białka szoku cieplnego 27 (Tanaka i wsp., 2015).

Szczep *Lactobacillus plantarum* CECT 7485 wykazuje zdolność wytwarzania polifosforanów 10 razy większą niż inne szczepy z gatunku *Lactobacillus*, takie jak *Lactobacillus rhamnosus* GG, w tym samym punkcie wzrostu. Ta właściwość jest pożądaną cechą probiotyku do zapobiegania i łagodzenia zapalenia jelit i poprawy funkcji bariery jelitowej.



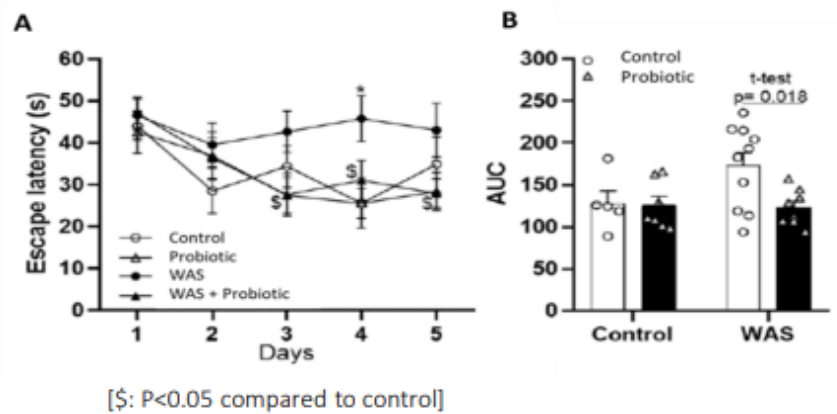
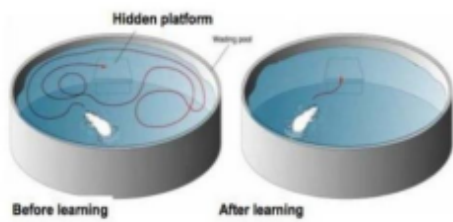
BADANIA KLINICZNE PRZEPROWADZONE NA EASYMIND™

Wykazano, że probiotyki mają szersze zastosowanie terapeutyczne niż wcześniej uważano.

Szczepy bakteryjne pochodzące z mikrobioty jelitowej są składnikami odpowiedzialnymi za sygnalizację mikrobiota-jelita-OUN. Niektóre szczepy bakterii mają zdolność sekrecji różnych neuroprzekaźników potrzebnych do regulacji wielu procesów psychologicznych. Wykazano, że bakterie zawarte w Integral Biotics EasyMind mają zdolność wytwarzania: GABA, dopaminy oraz acetylocholino, co może pomóc pacjentom cierpiącym z powodu zaburzeń psychicznych, takich jak depresja czy stany lękowe.

BADANIE PRZEDKLINICZNE NA MODELACH ZWIERZĘCYCH

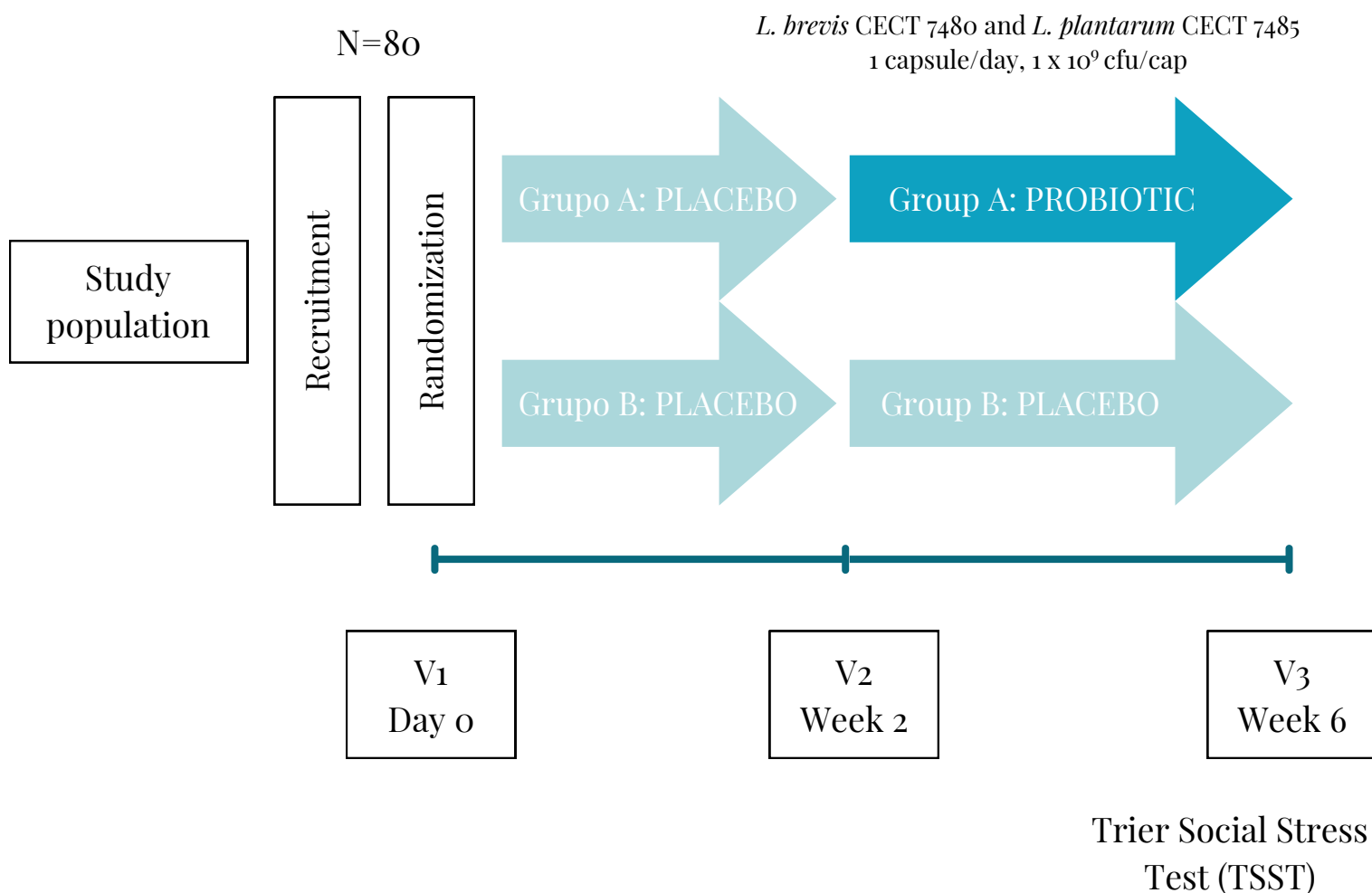
CEL	Wykazanie, że psychobiotyczne szczepy zawarte w EasyMind™ poprawiają funkcjonowanie poznawcze w sytuacjach stresowych.
PLAN BADANIA	Eksperymentalny myszy model indukowanego deficytu poznawczego w teście „water avoidance stress” (WAS)
WYNIKI	Formuła psychobiotyczna znacząco odwróciła dysfunkcję poznawczą od 3 dnia i dalej. Tym samym, psychobiotyk poprawił funkcje poznawcze w sytuacji stresu/niepokoju.



BADANIE KLINICZNE DOTYCZĄCE FUNKCJONOWANIA POZNAWCZEGO, STRESU I LĘKU

CEL	Wykazanie, że psychobiotyczna formuła EasyMind™ poprawia koncentrację, uczenie się i pamięć.
PLAN BADANIA	Randomizowane badanie z podwójnie ślełą próbą oraz kontrolowanym placebo.
GRUPA BADAWCZA	80 dorosłych podzielonych na dwie grupy: przyjmującą psychobiotyk (n=40) i przyjmującą placebo (n=40).
TERAPIA	Psychobiotyk/placebo podawane codziennie przez 4 tygodnie.
PIERWSZORZĘDNE KRYTERIUM OCENY KOŃCOWEJ	Funkcjonowanie poznawcze oceniane za pomocą CANTAB (Cambridge Neuropsychological Test Automated Battery) przeprowadzonym zaraz po Trier Social Stress Test (TSST)

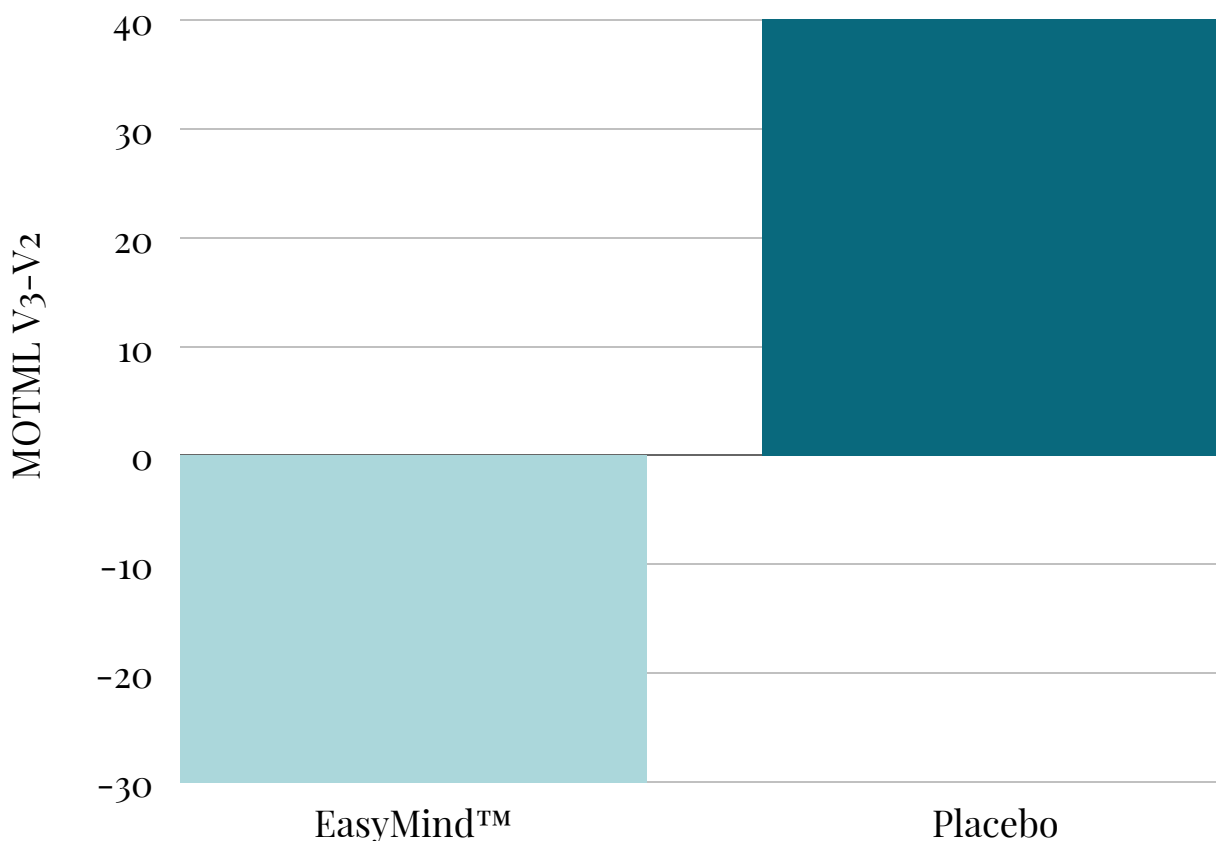
DRUGORZĘDNE KRYTERIUM OCENY KOŃCOWEJ	<p>a) Stres: Skala postrzeganego stresu (Perceived Stress Scale, PSS), wizualna skala analogowa (Visual Analog Scale, VAS) i kortyzol,</p> <p>b) Skale depresji, lęku i stresu (Depression, Anxiety and Stress Scales, DASS-21), Profil stanów nastroju (Profile of Mood States, POMS), Skala pozytywna i negatywna (Positive and Negative Scale, PANAS),</p> <p>c) Jakość życia (SF12) i jakość snu. Zebrane dane antropometryczne i społeczno-demograficzne oraz historia chorób</p>
---	--



WYNIKI

80 uczestników ukończyło badanie oraz obserwację po badaniu (follow-up). Zmienne demograficzne na początku badania nie różniły się między grupami przyjmującymi probiotyk i placebo. Wyniki stresu oceniane przez PSS były średnie do niskich i nie było różnic między grupami. Podczas protokołu TSST poziom kortyzolu wzrósł w obu grupach, nie zaobserwowano między nimi istotnych różnic. Po TSST wartości MOTML były istotnie niższe w grupie przyjmującej psychobiotyk niż w grupie przyjmującej placebo (-31,72 vs 37,84; $p = 0,0137$). Wzrost stężenia kortyzolu podczas TSST był dodatnio skorelowany z MOTML w grupie kontrolnej ($r = 0,45$; $p = 0,001$), ale nie w grupie przyjmującej probiotyk ($r = 0,113$; $p = 0,47$).

WARTOŚCI MOTML W GRUPIE BADAWCZEJ ORAZ KONTROLNEJ



WNIOSKI	Wyniki tego badania sugerują, że preparat psychobiotyczny EasyMind™ u osób zdrowych poddanych sytuacji stresowej może mieć pozytywny wpływ na funkcjonowanie psychomotoryczne i uwagę. Poprawę szybkości i dokładności psychomotorycznej uznaje się za ochronę poznawczą.
----------------	---

BADANIE KLINICZNE NA DZIECIACH Z ADHD I SPEKTRUM AUTYZMU

CEL	Badanie epidemiologii zaburzeń ze spektrum autyzmu (ASD), zaburzeń społecznych (pragmatycznych) i zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD) oraz ich związku z czynnikami żywieniowymi i środowiskowymi w populacji szkolnej w Hiszpanii (4-14 lat).
PLAN BADANIA	Randomizowane badanie z podwójnie ślepą próbą i kontrolowanym placebo.
GRUPA BADAWCZA	40 dzieci z rozpoznaniem ASD (n=20 placebo i n=20 aktywnych) i 40 dzieci z rozpoznaniem ADHD (n=20 placebo i n=20 aktywnych). Zdiagnozowane zgodnie z kryteriami DSM-V przez standaryzowane wywiady z rodzicami i dziećmi.
OCENA	Ocena antropometryczna i żywieniowa. Zebrane dane socjodemograficzne i historia choroby

TERAPIA	Probiotyki/placebo codzienne podawanie przez 3 miesiące.
PIERWSZORZĘDOWE KRYTERIUM OCENY KOŃCOWEJ	Zmiany w nasileniu objawów.
STATUS BADANIA	Zakończono badanie oraz obserwację pacjentów po badaniu. Teraz tworzona jest baza danych potrzebna do przeprowadzenia analizy statystycznej.

PODSUMOWANIE

- Dysbioza jelitowa związana jest z zaburzeniami ośrodkowego układu nerwowego, takimi jak zaburzenia depresyjne i lękowe.
- Dysfunkcja systemu GABA-ergicznego powiązana jest z lękiem i depresją. Niski poziom dopaminy koreluje z objawami ADHD i zaburzeniami neurodegeneracyjnymi.
- Unikalny szczep zawarty w EasyMind™- *L. brevis* CECT 7480 został specjalnie wyselekcjonowany ze względu na jego zdolność do wytwarzania neuroprzekaźników GABA i dopaminy.
- Unikalny szczep zawarty w EasyMind™- *L. plantarum* CECT 7485 został specjalnie wyselekcjonowany ze względu na jego zdolność do wytwarzania acetylocholiny i granulek polifosforanu, które wzmacniają funkcję bariery jelitowej i zmniejszają stan zapalny w nabłonku jelita.
- Psychobiotyki, takie jak EasyMind™, to żywe mikroorganizmy, które mogą przynosić korzyści zdrowotne pacjentom psychiatrycznym.

BIBLIOGRAFIA

1. Alcántara, C., Blasco, A., Zúñiga, M., & Monedero, V. (2014). Accumulation of polyphosphate in *Lactobacillus* spp. and its involvement in stress resistance. *Applied and environmental microbiology*, 80(5), 1650–1659. <https://doi.org/10.1128/AEM.03997-13>
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. Barrett, E., Ross, R. P., O'Toole, P. W., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2012). γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *Journal of applied microbiology*, 113(2), 411–417.
4. Berer, K., & Krishnamoorthy, G. (2012). Commensal gut flora and brain autoimmunity: a love or hate affair?. *Acta neuropathologica*, 123(5), 639–651.
5. Berk, M., Dodd, S., Kauer-Sant'anna, M., Malhi, G. S., Bourin, M., Kapczinski, F., & Norman, T. (2007). Dopamine dysregulation syndrome: implications for a dopamine hypothesis of bipolar disorder. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 116, 41–49.
6. Berry, A. S., White, R. L., Furman, D. J., Naskolnakorn, J. R., Shah, V. D., D'Esposito, M., & Jagust, W. J. (2019). Dopaminergic mechanisms underlying normal variation in trait anxiety. *Journal of Neuroscience*, 39(14), 2735–2744.
7. Borovikova, L. V., Ivanova, S., Zhang, M., Yang, H., Botchkina, G. I., Watkins, L. R., ... & Tracey, K. J. (2000). Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405(6785), 458–462.
8. Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., & Di Filippo, M. (2007). Dopamine-mediated regulation of corticostriatal synaptic plasticity. *Trends in neurosciences*, 30(5), 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.001>
9. Chaudhury, D., Walsh, J. J., Friedman, A. K., Juarez, B., Ku, S. M., Koo, J. W., ... & Han, M. H. (2013). Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons. *Nature*, 493(7433), 532–536.
10. Collins, S. M., Surette, M., & Bercik, P. (2012). The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature Reviews Microbiology*, 10(11), 735–742.
11. Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2012). Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(10), 701–712. [doi:10.1038/nrn3346](https://doi.org/10.1038/nrn3346)
12. Cryan, J. F., & O'Mahony, S. M. (2011). The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterology & Motility*, 23(3), 187–192.
13. Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature reviews neuroscience*, 9(1), 46–56.
14. DeGroot, S. R., Zhao-Shea, R., Chung, L., Klenowski, P. M., Sun, F., Molas, S., ... Tapper, A. R. (2020). Midbrain Dopamine Controls Anxiety-like Behavior by Engaging Unique Interpeduncular Nucleus Microcircuitry. *Biological Psychiatry*, 88(11), 855–866. [doi:10.1016/j.biopsych.2020.06.01](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.06.01)
15. Duerkop, B. A., Vaishnav, S., & Hooper, L. V. (2009). Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. *Immunity* 31, 368–376.
6. Eshel, N., Tian, J., Bukwich, M., & Uchida, N. (2016). Dopamine neurons share common response function for reward prediction error. *Nature neuroscience*, 19(3), 479–486. <https://doi.org/10.1038/nn.4239>

17. Forsythe, P., & Bienenstock, J. (2010). Immunomodulation by commensal and probiotic bacteria. *Immunological investigations*, 39(4-5), 429-448.
18. Forsythe, P., & Kunze, W. A. (2013). Voices from within: gut microbes and the CNS. *Cellular and molecular life sciences*, 70(1), 55-69.
19. Grace, A. A. (2016). Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(8), 524-532. doi:10.1038/nrn.2016.57
20. Gundersen, B. B. & Blendy, J. A. (2009). Effects of the histone deacetylase inhibitor sodium butyrate in models of depression and anxiety. *Neuropharmacology* 57, 67-74.
21. Kalueff, A. V., & Nutt, D. J. (2007). Role of GABA in anxiety and depression. *Depression and anxiety*, 24(7), 495-517.
22. Kashima, S., Fujiya, M., Konishi, H., Ueno, N., Inaba, Y., Moriichi, K., ... & Kohgo, Y. (2015). Polyphosphate, an active molecule derived from probiotic *Lactobacillus brevis*, improves the fibrosis in murine colitis. *Translational Research*, 166(2), 163-175.
23. Lydiard, R. B. (2003). The role of GABA in anxiety disorders. *Journal of Clinical Psychiatry*, 64, 21-27.
24. Lyte, M. (2011). Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays* 33, 574-581.
25. MacFabe, D. F., Cain, N. E., Boon, F., Ossenkopp, K. P., & Cain, D. P. (2011). Effects of the enteric bacterial metabolic product propionic acid on object-directed behavior, social behavior, cognition, and neuroinflammation in adolescent rats: relevance to autism spectrum disorder. *Behavioural brain research*, 217(1), 47-54.
26. Maes, M., Twisk, F. N., Kubera, M., Ringel, K., Leunis, J. C., & Geffard, M. (2012). Increased IgA responses to the LPS of commensal bacteria is associated with inflammation and activation of cell-mediated immunity in chronic fatigue syndrome. *Journal of affective disorders*, 136(3), 909-917.
27. Matur, E., & Eraslan, E. (2012). The impact of probiotics on the gastrointestinal physiology. *New advances in the basic and clinical gastroenterology*, 1, 51-74.
28. Maurer, S. V., & Williams, C. L. (2017). The cholinergic system modulates memory and hippocampal plasticity via its interactions with non-neuronal cells. *Frontiers in immunology*, 8, 1489.
29. Mayer, E. A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(8), 453-466.
30. Mazzoli, R., & Pessione, E. (2016). The neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling. *Frontiers in microbiology*, 7, 1934.
31. Möhler, H. (2012). The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology*, 62(1), 42-53.
32. Nemeroff C. B. (2003). The role of GABA in the pathophysiology and treatment of anxiety disorders. *Psychopharmacology bulletin*, 37(4), 133-146.
33. Nicholson, J. K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., & Pettersson, S. (2012). Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 336(6086), 1262-1267.
34. Nimgampalle, M., & Kuna, Y. (2017). Anti-Alzheimer properties of probiotic, *Lactobacillus plantarum* MTCC 1325 in Alzheimer's disease induced albino rats. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(8), KC01.
35. Nutt, D. J., & Malizia, A. L. (2001). New insights into the role of the GABA(A)-benzodiazepine receptor in psychiatric disorder. *The British journal of psychiatry: the journal of mental science*, 179, 390-396. <https://doi.org/10.1192/bjp.179.5.390>.

36. Pandit, R., Omrani, A., Luijendijk, M., de Vrind, V. A., Van Rozen, A. J., Ophuis, R. J., ... & Adan, R. A. (2016). Melanocortin 3 receptor signaling in midbrain dopamine neurons increases the motivation for food reward. *Neuropsychopharmacology*, 41(9), 2241–2251.
37. Picciotto, M. R., Higley, M. J., & Mineur, Y. S. (2012). Acetylcholine as a neuromodulator: cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. *Neuron*, 76(1), 116–129.
38. 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), 306–314.
39. Rosas-Ballina, M., & Tracey, K. J. (2009). Cholinergic control of inflammation. *Journal of internal medicine*, 265(6), 663–679.
40. Rousseaux, C., Thuru, X., Gelot, A., Barnich, N., Neut, C., Dubuquoy, L., ... & Desreumaux, P. (2007). *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nature medicine*, 13(1), 35–37.
41. Sam, C., & Bordoni, B. (2022). Physiology, Acetylcholine. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
42. Santos, J., Yang, P. C., Soderholm, J. D., Benjamin, M. & Perdue, M. H. (2001). Role of mast cells in chronic stress induced colonic epithelial barrier dysfunction in the rat. *Gut* 48, 630–636.
43. Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. (2016). Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. *Trends in neurosciences*, 39(11), 763–781.
44. Segawa, S., Fujiya, M., Konishi, H., Ueno, N., Kobayashi, N., Shigyo, T., & Kohgo, Y. (2011). Probiotic-derived polyphosphate enhances the epithelial barrier function and maintains intestinal homeostasis through integrin–p38 MAPK pathway. *PloS one*, 6(8), e23278.
45. Severance, E. G., Gressitt, K. L., Stallings, C. R., Origoni, A. E., Khushalani, S., Leweke, F. M., ... & Yolken, R. H. (2013). Discordant patterns of bacterial translocation markers and implications for innate immune imbalances in schizophrenia. *Schizophrenia research*, 148(1–3), 130–137.
46. Soderholm, J. D., & Perdue, M. H. (2001). II. Stress and intestinal barrier function. *American Journal of Physiology–Gastrointestinal and Liver Physiology*, 280(1), G7–G13.
47. Sternberg, E. M. (2006). Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nature Reviews Immunology*, 6(4), 318–328.
48. Strandwitz, P., Kim, K. H., Terekhova, D., Liu, J. K., Sharma, A., Levering, J., ... & Lewis, K. (2019). GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota. *Nature microbiology*, 4(3), 396–403.
49. Tanaka, K., Fujiya, M., Konishi, H., Ueno, N., Kashima, S., Sasajima, J., ... & Kohgo, Y. (2015). Probiotic-derived polyphosphate improves the intestinal barrier function through the caveolin-dependent endocytic pathway. *Biochemical and biophysical research communications*, 467(3), 541–548.
50. Terry, A. V., & Buccafusco, J. J. (2003). The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(3), 821–827.
51. Thomas, R. H., Meeking, M. M., Mepham, J. R., Tichenoff, L., Possmayer, F., Liu, S., & MacFabe, D. F. (2012). The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders. *Journal of neuroinflammation*, 9(1), 1–18.

52. Weintraub, D., Newberg, A. B., Cary, M. S., Siderowf, A. D., Moberg, P. J., Kleiner-Fisman, G., ... & Katz, I. R. (2005). Striatal dopamine transporter imaging correlates with anxiety and depression symptoms in Parkinson's disease. *Journal of Nuclear Medicine*, 46(2), 227-232.
53. Worley, J. (2017). The Role of Pleasure Neurobiology and Dopamine in Mental Health Disorders. *Journal of Psychosocial Nursing and Mental Health Services*, 55(9), 17-21. doi:10.3928/02793695-20170818-09
54. Wu, C. H., Hsueh, Y. H., Kuo, J. M., & Liu, S. J. (2018). Characterization of a potential probiotic *Lactobacillus brevis* RK03 and efficient production of γ -aminobutyric acid in batch fermentation. *International journal of molecular sciences*, 19(1), 143.
55. Wu, J., Xiao, H., Sun, H., Zou, L., & Zhu, L. Q. (2012). Role of dopamine receptors in ADHD: a systematic meta-analysis. *Molecular neurobiology*, 45(3), 605-620.
56. Zareie, M., Johnson-Henry, K., Jury, J., Yang, P. C., Ngan, B. Y., McKay, D. M., ... & Sherman, P. M. (2006). Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut*, 55(11), 1553-1560.