

**TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
LOOMAÖKOLOOGIA ÕPPETOOL**

Marten Kase

**MIKROBIOOMI MÕJU LOOMADE
KÄITUMISELE STRESSISITUATSOONIS**

Bakalaureusetöö

Juhendaja: Mari-Ann Lind

Tartu 2022

Infoleht

Mikrobioomi mõju loomade käitumisele stressisituatsioonis

Mikrobioom ja stress mõjutavad teineteist vastastikku, mille kaudu toimub käitumise, arengu ning organismi füsioloogilise seisundi reguleerimine. Kesknärvisüsteemi ja seedesüsteemi mikrobioomi vahelises suhtluses vahendab kõhu-aju telg, mis koosneb uitnärvist, HPA-teljest, mikroorganismide abil toodetud metaboliitidest, mille kaudu toimub erinevate signaalide ning neurotransmitterite edastamine. HPA-telg toodab kortisooli/kortikosterooni, mis on esmatähtis seoses loomade käitumisega stressisituatsioonis ja mõjutab nende kohasust. Antud töös analüüsitud mikrobioomi, stressi ja käitumise vahelisi seoseid käsitlevatest üksikuurimustest selgus, et paljudel juhtudel vähendavad kasulikud mikroorganismid stressi. Anti ülevaade antud uuringute ökoloogilisest valiidsusest ja kitsaskohtadest. Tulemustest selgus, et käitumine ja mikrobioom mõjutavad üksteist vastastikku.

Märksõnad: stress, mikrobioom, käitumine, loomuringud, kõhu-aju telg

Effect of microbiome on animal behaviour under stress

Microbiome and stress influence each other which regulates behaviour, development and physiological condition of the organism. Communication between the central nervous system and the digestive system microbiome is mediated by the gut-brain axis, which consists of the vagus nerve, the HPA axis, microbially derived metabolites, through which various signals and neurotransmitters are transmitted. The HPA axis produces cortisol/corticosterone, which is essential for the behaviour of animals under stress and influences their fitness. Case studies of the relationship between the microbiome, stress, and behavior that were analyzed in this thesis revealed that in many cases beneficial microorganisms reduce stress. An overview of the ecological validity and bottlenecks of these studies was provided. The results showed that behaviour and microbiome interact with each other.

Keywords: stress, microbiome, behaviour, animal studies, gut-brain axis

SISUKORD

Infoleht.....	2
1. Sissejuhatus.....	4
2. Stress.....	7
2.1 Stressikäitumise evolutsioonilised ja ökoloogilised põhjused.....	7
2.2 Stress ja HPA-telg.....	7
3. Kõhu-aju telg.....	10
4. Stressi, käitumise ja mikrobioomi olulisus ökoloogilises kontekstis.....	12
5. Empiirilised uuringud loomadel stressi, käitumise ja mikrobioomi vahelistest seostest.....	15
5.1 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed kaladel.....	15
5.2 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed lindudel.....	17
5.3 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed roomajatel.....	19
5.4 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed imetajatel.....	19
5.4.1 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed närilistel.....	19
5.4.2 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed teistel imetajatel.....	23
5.4.3 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed inimestel.....	24
6. Järeldused.....	30
Kokkuvõte.....	35
Summary.....	36
Tänuavaldused.....	37
Kasutatud kirjandus.....	38

1. Sissejuhatus

Mikrobiom on sümbiootiliste, kommensaalsete, patogeensete mikroorganismide kooslus ja nendega seotud geneetiline materjal (Berg et al., 2020; Lederberg ja McCray, 2001). Mikroorganismid paiknevad taimede ja loomade sees ning peal (Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008). Kõige suurem osa loomad elavatest mikroorganismidest, mille moodustavad arhed, bakterid ja ainuraksed eukarioidid, paiknevad seedesüsteemis, kus neid nimetatakse seedesüsteemi mikrobiotaks (Bäckhed, 2005; Levin et al., 2021; Thursby ja Juge, 2017). Seega on mõistetel mikrobiom ja mikrobiota erinev tähendus, kuid tihti kasutatakse neid sünonüümselt. Seedesüsteemis paiknevad mikroorganismid sisaldavad ligikaudu 100 korda rohkem geneetilist informatsiooni kui on inimese genoomis (Gill et al., 2006), kuigi hiljem on pakutud ka väiksemat arvu (Sender et al., 2016). Seedesüsteemi mikroorganismid osalevad mitmetes organismi funktsioonides, näiteks kaitsevad organismi patogeenide eest (Bäumler ja Sperandio, 2016), lõhustavad toitaineid (Oliphant ja Allen-Vercoe, 2019) ja toetavad immuunsüsteemi (Atarashi, et al., 2010). Mikrobiomi koosseis varieerub liikide vahel (Hammer et al., 2019), sama liigi isendite vahel (Yatsunenko et al., 2012) kui ka isendi siseselt (David et al., 2014). Erinevuste põhjusteks võivad olla paljud tegurid, sealhulgas sündimisviis (Li et al., 2018), keskkonnatingimused (Yatsunenko et al., 2012) ja toitumine (David et al., 2014).

Kiired muutused aju struktuuris ja mikrobiota koosseisus peale sündimist toimuvad sarnastes ajavahemikes ning seega toimub vastastikune teineteise mõjutamine (Borre et al., 2014; Heijtz et al., 2011). Aju ja seedesüsteemi vahel edastavate signaalide tähtsust kinnitas näiteks uuring, milles leiti, et mikroobivabadel hiirtel ei kujunenud välja tavapärase ärevuskäitumine (Heijtz et al., 2011). Signaalide edastamine seedesüsteemi ja aju vahel toimub mitmete metaboliitide kaudu, millest ühe osa moodustavad lühikese ahelaga rasvhapped (ingl. k. *short chain fatty acids*) (Cummings, 1981). Peamised imetajatel leiduvad lühikese ahelaga rasvhapped on butüraat, propionaat ja atsetaat, millest suurima osa moodustab viimane. Lühikese ahelaga rasvhappeid aitavad sünteesida jämesooles olevad mikroorganismid, kelle hulka kuuluvad näiteks perekonna *Clostridium*, *Bifidobacterium* ja *Lactobacillus* bakterid (Macfarlane ja Macfarlane, 2012). Nad on tähtsad organismi funktsioneerimiseks, sealhulgas vere-aju barjääri terviklikkuse toetamiseks (Silva et al., 2020), mis kaitseb aju vereringe kaudu levivate patogeenide eest (Pulzova et al., 2009). Aju mõjutamine toimub ka erinevate neurotransmitterite kaudu, mille kaudu leiab aset

närvirakkude vaheline suhtlus (Wall et al., 2014). Peamised seedesüsteemi mikroorganismidega seotud neurotransmitterid on serotoniin (5-HT), gamma-aminovõihape (GABA), histamiin, atsetüülkoliin ja katehhoolamiinid noradrenaliin ehk norepinefriin ning dopamiin. Serotoniin ja GABA on fookuses töös käsitletud üksikuurimustes, sest neid on kõige rohkem uuritud seoses stressiga. GABA sünteesimist mõjutavad näiteks bakterid perekonnast *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ja serotoniini sünteesimist *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* ning *Escherichia* (Barrett et al., 2012; Wall et al., 2014).

Serotoniinil on mitmeid funktsioone olenevalt retseptorist (Sharp ja Barnes, 2020). Ajus sünteesitud serotoniin mõjutab meeleolu (Wrase et al., 2006) ja selle väärtalitlust on seostatud depressiooniga (Albert et al., 2012) ning ärevusega (Lesch et al., 1996). Imetajatel paikneb umbes 60-90% serotoniinist seedesüsteemis, mis toodetakse seal paiknevate enterokromafiini rakkude poolt, kes saavad signaale seal paiknevate mikroorganismidelt (McLean et al., 2007; Nemoto et al., 1982; Yano et al., 2015). On võimalik, et osad mikroorganismid osalevad ka otseselt serotoniini sünteesimises (Wall et al., 2014). Seedesüsteemis toodetud serotoniini tagab seedesüsteemi lihaste liikuvuse ja sekretoorsete funktsioonide toimimise (McLean et al., 2007; Yano et al., 2015). Seal sünteesitud serotoniin ei läbi vere-aju barjääri, kuid sealne mikrobiota võib mõjutada ajus toodetud serotoniini trüptofaani sünteesimise kaudu, mis on serotoniini eelkäija (Lukić et al., 2019). GABA on peamine pidurdava toimega ehk närvirakkude aktiivsust närviülekanne pärssimise kaudu vähendav neurotransmitter täiskasvanud organismis (Wu ja Sun, 2015), mis seletab selle rolli une soodustamisel (Gottesmann, 2002). Varajases organismi arengus on GABA ergutava toimega tagades neurogeneesiks vajalike protsesside toimimise (Wu ja Sun, 2015). Tema tasakaal glutamaadiga, mis on närviülekanne võimendav neurotransmitter, on vajalik neuronite funktsioneerimiseks. Antud mikroorganismide poolt mõjutatud neurotransmitterid on olulised, sest nad mõjutavad stressi ja sellega seotud käitumist.

Antud töö eesmärk on anda ülevaade uuringutest, kus on vaadeldud loomadel mikrobioomi, stressi ja sellega seotud käitumise vahelisi seoseid. Vaadeldakse mikrobioomi seost kortikosterooniga/kortisooliga ja neurotransmitteritega, mis mõjutavad käitumist ning stressi. Evolutsioonilisest perspektiivist lähtuvalt keskendutakse mikrobioomi koevolutsioneerumisele peremeesorganismidega ja sellega seotud mehhanismidele. Arutlen mudelorganismidel tehtud uuringute ökoloogilise valiidsuse üle ja kui võrd on antud

tulemused ülekantavad looduses elavatele organismidele. Uuringute puhul on töös eraldatud neli rühma: kalad, roomajad, linnud ja imetajad (närlised, teised imetajad, inimesed). Närlistel on tehtud enamik uuringuid (näiteks Bravo et al., 2011; Kelly et al., 2016) ja inimestel tehtud uuringute arv on viimasel kümnendil märgatavalt tõusnud (näiteks Lew et al., 2019; Romijn et al., 2017). Osades uuringutes on kasutatud mikrobioomi manipulatsiooni probiootikumide, prebiootikumide ja väljaheidete siirdamise kaudu. Teistes uuringutes on vaadeldud stressi tagajärjel esinenud muutusi mikrobioomi koosseisus. Osades uuringutes on kombineeritud mõlemat lähenemist. Arutlen, kas muutused mikrobioomis on käitumise tekitajaks, selle tagajärg või mõlemat.

2. Stress

2.1 Stressikäitumise evolutsioonilised ja ökoloogilised põhjused

Stressivastus on kujunenud evolutsiooni jooksul, et tagada organismide ellujäämine seoses võimalike ohuallikatega ja see on sarnane enamikel organismidel (Taborsky et al., 2021). Stressivastus jaotatakse tavaliselt kolmeks osaks: baastase, tipptase ja languse faas. Stressi võivad põhjustada näiteks ressursside kättesaadavus, kiskjad, vigastused, haigused, konkurendid ja ebasobiv ilmastik. Stressivastus toimib suitsuanduri põhimõttel (ingl. k. *smoke detector principle*) ehk aktivatsioon toimub ka väiksema ohu korral vältimaks võimalikku kahju (Nesse, 2006). Näiteks kuuldes põõsas sahistamist on potentsiaalsel saakloomal põgenemisega seotud kahju väiksem kui kiskja saagiks langemine. Antud reaktsioon on näide kaitsemehhanismist, mis esineb täielikult või üldse mitte, siia alla kuulub veel näiteks oksendamine. Teistsugused kaitsereaktsioonid väljenduvad teatud määral sõltuvalt ohust, kuigi nende puhul on samuti esindatud esinemise algväärtus. Selle näideteks on väsimus, palavik ja teised sarnased reaktsioonid.

2.2 Stress ja HPA-telg

Stressi on keeruline defineerida ja on pakutud erinevaid seletusi. Hans Selye definitsiooni põhjal on stress keha mittespetsiifiline vastus igasugustele nõudmistele (Selye, 1976). Lazarus pakkus välja definitsiooni, mille kohaselt viitab stress olukorrale, mille korral tajutavad nõudmised on suuremad kui isiklikud ressursid (Lazarus ja Folkman, 1984). Sümpaatilise närvisüsteemi “võitle-põgene” stressireaktsiooni korral sünteesitakse neerupealistes adrenaliini, mille tagajärjel suureneb südamerütm, rohkem verd liigub lihastesse ja suureneb hapniku omastamine (Cannon, 1915; Wehrwein, 2016). Samuti suureneb glükoosi hulk veres ja varasemalt kogutud energiavarude kasutamine. Sümpaatilise närvisüsteemi vastand on parasümpaatiline närvisüsteem, mis on seotud puhkamis-seedimis protsessidega ja mille peamine neurotransmitter on atsetüülkoliin.

Pikemaajalise stressivastuse korral aktiveerub hüpotalamuse-hüpofüüsi-neerupealiste-telg (HPA-telg) või hüpotalamuse-hüpofüüsi-interrenaal-telg (HPI-telg) (Sheng et al., 2021; Taborsky et al., 2021). HPA-telg esineb imetajatel, lindudel, roomajatel ja HPI-telg

kahepaiksetel ning kaladel. HPA-telje aktivatsiooni korral toodab hüpotalamus kortikotropiini vabastavat hormooni (ingl. k. *corticotrophin-releasing hormone*), mille tagajärjel hüpofüüs ehk ajuripats eritab vereringesse adrenokortikotroopset hormooni (ingl. k. *adrenocorticotropic hormone*), mis transporditakse neerupealiseni. Neerupealised toodavad kortisooli (kaladel ja enamikel imetajatel) või kortikosterooni (kahepaiksed, linnud, roomajad, närilised), mis mõlemad on glükokortikoidid (CORT). CORT-i sünteesimise tagajärjel sünteesitakse maksas ning neerupealiste koos glükogeenist glükoosi, mille tagajärjel suureneb selle hulk veres. Liigset CORT-i taset veres tunnetavad hüpotalamuse ja hüpofüüsi retseptorid, mille kaudu toimib negatiivse tagasiside mehhanism.

Lühiajaliselt aitavad HPA-telje/HPI-telje kaudu sünteesitud CORT keskkonna nõudmistega toime tulla, kuid pikaajaline liiga kõrge tase põhjustab kroonilist stressi (Sapolsky, 2004). Krooniline stress on seotud immuunsüsteemi nõrgenemise, viljakuse vähenemisega ja vigastustest aeglasema paranemisega. Selle tõttu võivad loomadel omakorda tekkida depressioonile omased sümptomid (Checkley, 1996) ja inimestel depressioon (Tafet ja Bernardini, 2003), mille üheks sümptomiks on huvi kadumine varem rahulolu pakkunud tegevuste vastu (McCarter, 2008), mis on näide käitumise mõjutamisest. CORT-i kõrgem tase ei pruugi olla otseses põhjuslikus seoses immuunsüsteemi alla surumisega, vaid kaitseb organismi keha stressireaktsiooni tagajärgede eest ennetades homöostaasist kõrvalekaldumist (Munck et al., 1984). Hilisema uuringu (Yeager et al., 2010) autorite arvates võib CORT mõjuda põletikku soodustavalt kui ka pärssivalt sõltuvalt ajast ja kontsentratsioonist. Antud uuring tehti inimestel, kuid sama võib kehtida ka teistel loomadel, sest nagu varasemalt mainitud, on stressireaktsioon analoogne erinevatel organismidel (Taborsky et al., 2021).

CORT mõjutab peale stressi veel teisi organismi füsioloogilisi mehhanisme (Steptoe ja Serwinski, 2016) ja käitumuslikke tunnuseid (Baugh et al., 2013). Näiteks on leitud, et CORT-i tase tõuseb öö hilisemas faasis ja vahetult enne ärkamist tagades organismi ülestõusmise, mis on näide tsirkadiaanrütmi mõjutamisest (Steptoe ja Serwinski, 2016). On uuritud CORT-i taseme seost loomade isiksusega, mille puhul on peamiselt fookuses julgus/uudistav käitumine (näiteks Baugh et al., 2013). Paljud uuringud on tehtud rasvatihasel (*Parus major*), mille puhul on leitud negatiivne seos CORT-i taseme ja uudistava käitumise vahel (Baugh et al., 2013; Stöwe et al., 2010). Seoseid isiksusega on veel uuritud hallhanel (*Anser anser*), mille puhul leiti positiivne seos agressiivsuse ja CORT-i taseme vahel (Kralj-

Fišer et al., 2009). Arvestades asjaoluga, et mikrobiom mõjutab CORT-i taset (Sudo et al., 2004), võib toimuda seekaudu mõju avaldamine loomade käitumisele. Spetsiifiliste mõjude tuvastamine on keeruline, sest CORT-i ja käitumise vaheline mõju on vastastikune (Hau ja Goymann, 2015). Käitumist mõjutavad veel teised hormoonid (Hau ja Goymann, 2015) ja neurotransmitterid (Sharp ja Barnes, 2020; Wu ja Sun, 2015), mis interakteeruvad omavahel (näiteks Barth et al., 2015).

3. Kõhu-aju telg

Viimasel kümnendil on hakatud rohkem uurima mikrobioomi mõju stressile, seda nii loomad (Crumeyrolle-Arias et al., 2014; Davis et al., 2016) kui inimestel (Foster et al., 2017; Wiley et al., 2017). Mitmetes uuringutes on mõjutatud mikrobioomi probiootikumide manustamise kaudu ja uuritud selle erinevaid mõjusid biomarkeritele ning käitumisele (Borrelli et al., 2016; Bravo et al., 2011). Mikrobioom mõjutab stressi kõhu-aju telje kaudu, mis ühendab kesknärvisüsteemi ja enteerset (seedesüsteemi) närvisüsteemi (Carabotti et al., 2015). Kõhu-aju telje tähtsaimad komponendid on uitnärv (Breit et al., 2018), mikroorganismide poolt toodetud (Wall et al., 2014) ning mõjutatud metaboliidid (Yano et al., 2015) ja HPA-telg (Sheng et al., 2021). Kõhu-aju telg mõjutab mainitud komponentide kaudu käitumist ja on seotud mitmete vaimse tervise häiretega inimestel, näiteks ärevuse, skisofreenia ja depressiooniga (Morais et al., 2021). Depressiooni mõjutavad näiteks lühikese ahelaga rasvhapped ja soolestiku barjääri terviklikkus, mille mõju avaldub uitnärv kaudu. *Lactobacillus reuteri*' osalusel toimub hormooni oksütotsiin sünteesimine, mis mõjutab sotsiaalsust, mis kinnitab kõhu-aju telje mõju käitumisele.

Uitnärv on osa autonoomse närvisüsteemi parasümpaatilisest harust (Breit et al., 2018). Uitnärv täidab sensoorseid ja motoorseid funktsioone kontrollides südamerütmi, seedimist ja kardiovaskulaarset aktiivsust. Kõhu-aju telje korral vahendab ta kahepoolseid signaale soolestiku epiteeli ja kesknärvisüsteemi vahel, kuigi tähtsaima osa moodustavad aferentsed signaalid, mille kaudu tuleb informatsiooni kesknärvisüsteemi. Kahepoolsed signaalid mõjutavad soolestiku läbilaskvust, immuunsüsteemi ja organismi füsioloogilist tasakaalu (Carabotti et al., 2015). Antud signaalide tähtsust näitab uitnärv düsfunktsioneerimine ärritunud soole sündroomi (ingl. k. *irritable bowel syndrome*) korral (Breit et al., 2018). Uitnärv eemaldamisel kadus *Lactobacillus rhamnosus*'e mõju GABA retseptoritele, mis kinnitab jällegi selle tähtsust kahepoolsete signaalide vahendamisel (Bravo et al., 2011). Seedesüsteemis paiknevad enteroendokriinsed rakud toodavad bakteriaalsete metaboliitide mõju tagajärjel mitmeid neurotransmittereid, mis levivad vereringe kaudu ja mõjutavad enteerset närvisüsteemi (Carabotti et al., 2015; Yano et al., 2015).

Organismi mõjutamine mikrobioomi kaudu avaldub veel varem mainitud HPA-telje mõjul, mis reguleerib CORT-i sünteesimist (Sheng et al., 2021; Taborsky et al., 2021). Liigse CORT-i tagajärjel kahjustub soolestiku barjääri terviklikkus, mis tekitab põletikureaktsiooni

(O'Mahony et al., 2009). Põletikureaktsiooniga kaasneb suurenenud HPA-telje aktiivsus, mis vähendab pikema aja jooksul CORT-i retseptorite tundlikkust, mis on vajalikud negatiivses tagasiside mehhanismis (Chrousos ja Gold, 1992). Mikrobioomi tähtsust stressireaktsioonis kinnitab veel uuring, kus leiti, et mikroobivabade hiirte HPA-telje aktiivsus vastusena stressile on võimendunud võrreldes rottidega, kellel esinesid mikroorganismid (Sudo et al., 2004). Antud uuringus vähendati mikroobivabade hiirte HPA-telje aktiivsust kasutades *Bifidobacterium infantis*'t, kuid mõju avaldus vaid varajases arengustaadiumis.

4. Stressi, käitumise ja mikrobioomi olulisus ökoloogilises kontekstis

Evolutsioonilisest vaatepunktist lähtuvalt on üks organismi ja temal elutsevate mikroorganismide kooseluvorme sümbioos (Shapira, 2016). Peremeesorganism võimaldab mikroorganismidele sobivate tingimustega keskkonna elamiseks ja paljunemiseks.

Mikroorganismid suurendavad omakorda peremeesorganismi kohasust (ingl. k. *fitness*) ja suurendavad seeläbi oma ellujäämist, näiteks suurendab *Lactobacillus plantarum* toitainete puuduse korral hariliku äädikärbsse (*Drosophila melanogaster*) kasvamist sellega seotud hormonaalsete signaalide kaudu (Storelli et al., 2011). Seega suurendab antud bakter äädikakärbsse ellujäämist stressisituatsioonis.

Mikrobioom omandatakse vertikaalselt (otseselt vanemalt järglasele) või/ja horisontaalselt interaktsioonis keskkonnaga (Roughgarden et al., 2018; Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008). Horisontaalse ülekande plussiks on suurem geneetiline mitmekesisus ja suurem tõenäosus kohaneda muutuvate keskkonnatingimustega (Roughgarden et al., 2018).

Hologenoomi teooria põhjal on mikroorganismide ja tema peremeesorganismi geneetiline materjal mõjutatud sama evolutsioonilise valiku poolt ning seega peaks neid kategoriseerima ühtse tervikuna (Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008). See kattub teatud määral definitsiooniga, mille põhjal on holobiont füsioloogiliselt, arenguliselt ja anatoomiliselt ühtne tervik (Roughgarden et al., 2018). Antud definitsioonidest lähtudes võib öelda, et holobionti iseloomustab samuti ühtne käitumuslik vastus stressorile. Sümbiootilised mikroorganismid suurendavad stressi olukorrale vastavat käitumuslikku ja füsioloogilist reaktsiooni, sest nende eesmärgiks on suurendada enda ning peremeesorganismi ellujäämist (Shapira, 2016).

Autorid toovad hologenoomi teooria toetuseks välja, et holobiondi ehk organismi ning temaga seotud mikroorganismide omadused sisaldavad endas rohkemat kui nende kahe summa ja et osadel loomadel on spetsiifilised organid, kus on optimaalsed elutingimused teatud mikroorganismidele (Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008). Tõepoolest on keeruline vaadata eraldi mäletsejaid ja nende seedesüsteemis paiknevaid mikroobe, kes aitavad tselluloosi lõhustada (Janis, 1976). Samuti tuuakse välja, et kõikidel looduslikel taimedel ja loomadel on sümbiootilised mikroorganismid (Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008). Samas Hammer jt (2019) kritiseerivad vaatepunkti, mille kohaselt eeldatakse sümbiootiliste mikroorganismide olemasolu veel uurimata organismidel. Varasema kirjanduse põhjal tuuakse välja mitmeid liike, kellel esineb vähe püsivaid mikroorganisme või puuduvad nad

täielikult (Hammer et al., 2019). Siiski tunnistavad hologenoomi teooria toetajad ajutise mikrobioomi eristamise tähtsust ja lähtuvad püsivast mikrobioomist (Roughgarden et al., 2018).

Huitzil jt (2018) koostasid mudeli uurimaks mikrobioomi rolli peremeesorganismi evolutsioonis, mida mõjutavad tegurid on mikrobioomi mitmekesisus, sümbiootiline peremeesorganismi-mikroorganismide suhtlus, düsbioos ja spetsialiseerumine. Mikrobioomi düsbioos võib põhjustada vaimse tervise häireid, mille üks omadusi on mittekohane käitumuslik ja füsioloogiline reaktsiooni ümbritsevale keskkonnale (Morais et al., 2021). Spetsialiseerumise puhul on tähtis erinevate nišside hõivamine erinevate mikroorganismide poolt, mis vähendab nendevahelisi konflikte. Seda kinnitavad uuringud, mis on näidanud mitmekesise mikrobioomi tähtsust (Kelly et al., 2016; Yan et al., 2021). Loodusliku valiku puhul keskendutakse mudelis funktsioonidele, mis aitavad peremeesorganismil ja teda vastastikku mõjutavatel mikroorganismidel ellu jääda, olenemata nende liigilisest koosseisust (Huitzil et al., 2018). See kattub teatud määral hologenoomi teooria vaatepunktiga, mille kohaselt iseloomustab evolutsioonilise valiku all olevat organismi ühtne reaktsioon keskkonnale ehk mikroorganismide koosseis on teisejärguline (Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008).

Mikrobioom võib reageerida muutustele reguleerides oma geneetikat ja füsioloogiat ning muutes oma koosseisu erineval määral lähtuvalt tingimustest (Kolodny ja Schulenburg, 2020). Füsioloogiliste protsesside reguleerimine võib mõjutada kõhu-aju telge (Carabotti et al., 2015), mis on HPA-telje kaudu seotud stressireaktsiooniga (Sheng et al., 2021; Taborsky et al., 2021). Samuti võib mikrobioom muuta peremeesorganismi fenotüübi varieeruvust seda suurendades või vähendades ja/või mõjutada populatsiooni keskmist fenotüüpi (Henry et al., 2021). Seega võib mikrobioomi plastilisus vähendada kui ka suurendada geneetilist kohanemist (Kolodny ja Schulenburg, 2020). Plastilisus tuleb organismile kasuks kokkupuutes uudse patogeeni ja toiduallikaga, milles leiduvate toitainete seedimiseks on vajalik uute mikroorganismide omandamine (Dunn et al., 2020).

Ühe vaatepunkti põhjal pakutakse välja, et inimesed muutusid toidu kääritamise tagajärjel paiksemaks ja suurenes käärimisega seotud bakterite arvukus seedesüsteemis, mille tagajärjel suurenes sõltuvus antud mikroorganismide järele (Dunn et al., 2020). Ühe grupi liikmed tarbisid suure tõenäosusega sarnaseid toite ja seega muutus nende mikrobioom sarnasemaks võrreldes teiste gruppide liikmete mikrobioomiga. Autorid pakuvad välja, et

antud kääritamise seotud mikroorganismid võisid soodustada prosotsiaalset käitumist, et suurendada oma levikut. Prosotsiaalne käitumine vähendab stressi negatiivseid tagajärgesid (Raposa et al., 2016) ja seega võisid kasulikud mikroobid kaudselt soodustada adekvaatset reaktsiooni stressile.

5. Empiirilised uuringud loomadel stressi, käitumise ja mikrobioomi vahelistest seostest

5.1 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed kaladel

Kalasad on tihti kasutatud mikrobioomi, stressi ja käitumise vaheliste seoste uurimiseks (Borrelli et al., 2016, Davis et al., 2016). Borrelli jt (2016) uurisid probiootikumi *Lactobacillus rhamnosus*'e mõju sebrakalade (*Danio rerio*) tserebraalse neurotroofse faktori (BDNF; ingl. k. *brain-derived neurotrophic factor*) tasemele, serotoniini sünteesile ja liikumiskäitumisele parves. Tulemused näitasid, et probiootikumi saanud sebrakalad jaotusid ühtlasemalt veeanumas ja olid üldiselt aktiivsemad kui kontrollgrupi sebrakalad. Probiootikume saanud sebrakalad eelistasid veeanuma keskmisi ning madalamaid piirkondasid võrreldes kontrollgrupiga, kes eelistas kõrgemaid piirkondasid (Borrelli et al., 2016). See on vastupidine *Lactobacillus plantarum*'i mõjule uudsesse akvaariumisse sukeldamise katses (ingl. k. *novel tank diving*), mille tagajärjel veetsid probiootikumi saanud sebrakalad rohkem aega veenõu ülemistes kihtides, mis on seotud väiksema ärevusega (Davis et al., 2016). Antud tulemust võis põhjustada asjaolu, et Borrelli jt (2016) uurisid käitumist tavasituatsioonis ja Davis jt (2016) uurisid käitumist stressisituatsioonis. Probiootikumi saanud sebrakaladel oli võrreldes kontrollgrupiga kõrgem BDNF-i tase ajus (Borrelli et al., 2016), mis toetab närvirakkude ellujäämist, kasvu ja arengut ning mõjutab käitumist, näiteks inimestel on BDNF-i taset seostatud meeleoluhäiretega (Martinowich ja Lu, 2008). Serotoniini tase tõusis probiootikume saanud sebrakalade ajus, kuid vähenes kõhus, mis viitab spetsiifilistele signaaliradadele (Borrelli et al., 2016). Davis jt (2016) leidsid, et serotoniini transporterite geenide aktiivsus suurenes sebrakalade ajus, mis viitab kahe probiootikumi sarnasele toimele seoses serotoniiniga, mis võis mõjutada ärevust. Stressi tagajärjel esinesid erinevused *Lactobacillus plantarum*'i saanud sebrakalade mikrobioomi koosseisus võrreldes kontrollgrupi sebrakaladega (Davis et al., 2016). Kontrollgrupi sebrakaladel vähenes märgatavalt stressi tagajärjel hõimkonna *Fusobacteria*' arvukus, mida ei esinenud probiootikumi tarbinud sebrakaladel. Borrelli jt (2016) katses ei esinenud olulisi erinevusi *Fusobacteria*' arvukuses kontroll- ja katsegrupi vahel, kuid antud katses ei kogenud sebrakalad kroonilist ettearvamatut stressi, mille olemasolul oleks olnud võimalik antud tulemuste võrdlemine. Siiski esines mõlemas katses probiootikumidel positiivne mõju sebrakaladele (Borrelli et al., 2016; Davis et al., 2016). Seega mõjutab probiootikumide

manustamine sebrakalade käitumist nii stressitingimustes kui tavasituatsioonis ning muudab nende mikrobioomi koosseisu (Borrelli et al., 2016; Davis et al., 2016).

Gonçalves jt (2011) leidsid, et *Lactobacillus rhamnosus* leevendas kitsa veeanuma tõttu tekitatud stressi mõjusid Niiluse tilapial (*Oreochromis niloticus*). Tulemustest selgus, et probiootikumi saanud tilapiad kasvasid kiiremini võrreldes tavalisel dieedil olnud tilapiatega. Probiootikumi tarbimine leevendas stressi mõjusid toitumise efektiivsusele ja kaalule. Seega järelavad autorid, et *Lactobacillus rhamnosus* parandab toimetulekut stressoriga, mille puhul võis olla üks toimetulekumehhanisme ainevahetuse toetamine. See on võimalik, sest mitmed probiootilised bakterid osalevad vitamiinide sünteesimises (Martens et al., 2002; Pompei et al., 2007) ja aitavad säilitada organismi homöostaasi (Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008).

Lactobacillus plantarum ja *Lactobacillus fructivorans* mõjutasid CORT-i taset ning suurendasid kuld-merekogre (*Sparus aurata*) kalamaimude vastupidavust stressile, mida põhjustas pH taseme muutus (8.6-6.3) (Rollo et al., 2006). Grupi A kalamaimud said probiootikume 5.-47. päeval peale koorumist. Grupi B kalamaimud said probiootikume 27.-47. päeval peale koorumist. Kontrollgrupp ei saanud probiootikume. Stressor ehk pH taseme muutus ilmnis 47. päeval. Enne stressori ilmumist oli probiootikume tarbinud kalamaimudel madalam CORT-i tase võrreldes kontrollgrupiga, mis on kooskõlas mitmete uuringutega inimestel, milles on leitud, et *Lactobacillus* alandab CORT-i taset (Lew et al., 2019; Nishida et al., 2017). Peale pH muutust oli suurim CORT-i taseme tõus kontrollgrupi kalamaimudel ja neil oli kõrgem suremus võrreldes probiootikume tarbinud kalamaimudega. Kontrollgrupi kalamaimude mikrobioomis puudusid *Lactobacillus*'e liigid, mida manustati probiootikume saanud gruppidel. Probiootikume tarbinud kalamaimudel vähenes *Staphylococcus*'e ja *Enterobacteriaceae*' arvukus, mis on potentsiaalselt patogeensed. Autorite arvates näitab madalama CORT-i taseme ja *Lactobacillus*'e vaheline korrelatsioon antud uuringus, et viimane on seotud mikrobioomi tasakaaluga. Seega muutsid probiootikumid kuld-merekogre kalamaimude mikrobioota koosseisu ja suurendasid nende ellujäämist.

Stressi mõju kalade mikrobioomile on uuritud ka ilma probiootikumiteta (Hassenrück et al., 2021; Liu et al., 2022). Vee temperatuuri tõusuga seotud stress mõjutas noorte piimkalade (*Chanos chanos*) mikrobioomi (Hassenrück et al., 2021). Kontrollgrupi piimkalad oli veeanumates konstantse temperatuuriga 26 °C. Stressi kogenud piimkalade veetemperatuur tõusis iga iga päev 1 °C võrra kuni jäi stabiilseks temperatuuril 33 °C. Muutused piimkalade mikrobioomis olid suurimad katse- ja kontrollgrupi vahel peale algset temperatuuri tõusu,

kuid vähenesid aja jooksul. See on kooskõlas Bailey jt (2011) uuringu tulemustega, kus leiti, et muutused hiirte mikroobioomis olid suurimad peale stressori ilmnamist. Antud tulemused võisid olla põhjustatud stressireaktsiooni alanemisest languse faasis, mille tõttu vähenes mõju mikroobioomile (Taborsky et al., 2021). Stressi kogenud piimkalade mikroobioomis oli suurem *Fusobacteriales'* osakaal võrreldes kontrollgrupiga, kuid vähenes siiski aja jooksul. Antud bakteri osakaal vähenes Davis jt (2016) uuringus stressi tagajärjel kontrollgrupi sebrakaladel, kuid ei muutunud oluliselt probiootikumi tarbinud sebrakaladel. Muutused katsegrupi piimkalade mikroobioomis olid kooskõlas füsioloogiliste reaktsioonidega, mis tekkisid vastusena temperatuuritõusule. Täpsemalt korreleerusid hepatosomaatiline indeks (HSI), mis näitab kala energivarusid, ja mikroobioomi koosseis.

Temperatuuritõusu mõju mikroobioomile ja metabolismile on uuritud veel noortel huntahvenatel (*Dicentrarchus labrax*) (Liu et al., 2022). Kalad jagati 60 päevaks kolme katsegruppi, milles sõltumatu muutuja oli vee temperatuur, mis oli 10 °C (esimene katsegrupp), 15 °C (kontrollgrupp) või 20 °C (teine katsegrupp). Antud katses suurenes vee temperatuur iga päev 2 °C võrra. Võrreldes kontrollgrupiga vähenes esimese katsegrupi *Faecalibacterium'i* ja suurenes *Filifactor'i* suhteline arvukus. Teisel katsegrupil suurenes võrreldes kontrollgrupiga *Erysipelotrichaceae'* ja *Butyricicoccus'e* suhteline arvukus. Erinevate gruppide vahel esinesid erinevused aminohapete metabolismis, DNA parandamises ja teistes juhtetees. Seega mõjutas stress noorte huntahvenate mikroobioomi koosseisu ja sellega seotud protsesse.

5.2 Mikroobioomi ja stressi vahelised seosed lindudel

Hiljutine uuring leidis, et *Lactobacillus rhamnosus* vähendas sulgede nokkimist kodukanadel, kes kogesid korduvat ettearvamatut kroonilist stressi, mis viitab stressi mõjude leevendamisele (Mindus et al., 2021). Platseebot saanud stressis kodukanade sulestik oli rohkem kahjustunud kui probiootikumi tarbinud kanadel. Stressi mõjude leevendamist probiootikume tarbinud kanadel võis põhjustada mikroobioomi düsbioosi vähenemine umbsooles ja immuunrakkude arvukuse tõus umbsooles ning põrnas. *Lactobacillus rhamnosus* võis veel mõjutada GABA sünteesimist (Wall et al., 2014), mille üle arutleti antud uuringus, kuid mida ei mõõdetud. Huvitav on asjaolu, et probiootikumi ja platseebot saanud

kanade CORT-i tase oli sarnane, mille põhjuseks võis olla autorite arvates krooniline stress, mis vähendas CORT-i taset.

Seoses linnastumisega uuriti müra mõju vangistuses üles kasvanud valgekiird-sidriku (*Zonotrichia leucophrys*) mikrobioomile, CORT-i tasemele, toitumisele ja mikrobioomile (Berlow, Wada, et al., 2021). Kõik linnud läbisid 4 katsetingimust, millest esimene oli kohanemine uue keskkonnaga kambris. Peale seda kogesid pooled linnud müra (74–74.8 dBA), taastumist ja kontrolltingimust (müravaba keskkond). Teine grupp linde koges peale kohanemist kontrolltingimust, müra ja taastumist. CORT-i tase oli madalaim uue keskkonnaga kohanemisel. Esimese grupi lindude CORT-i tase tõusis peale müra taastumise faasis ja jäi kõrgemale ka kontrolltingimuse ajal. Teise grupi lindude CORT-i tase tõusis müra tõttu, kuid langes järgneval taastumise perioodil. Toidu söömine oli kõige väiksem müratingimuse korral, mis näitab, et müra mõjutas otseselt toitumist. Mikrobioomi alpha mitmekesisus, mis iseloomustab ühe proovi mitmekesisust, oli suurim taastumise perioodil ja see oli otseselt müra poolt mõjutatud. Mikrobioomi beeta mitmekesisuses ei esinenud olulisi muutusi gruppide siseselt, mis võis olla põhjustatud sarnastest mikrobioomi muutustest müra tõttu.

Teises valgekiird-sidrikul tehtud uuringus leiti, et mikrobioom erineb linnas ja looduslikus keskkonnas elavate vabade isendite vahel ning antud keskkondades mõjutavad mikrobioomi erinevad faktorid (Berlow, Phillips, et al., 2021). Antud uuring on tähtis, sest urbaniseerumist on seostatud muutustega loomade stressitasemes (Isaksson, 2020) ja käitumises (Lee ja Thornton, 2021). Linnas elavate lindude alpha mitmekesisus oli suurem kui looduslikumas keskkonnas elavatel lindudel ning seda mõjutasid keskkonna parameetritest kõige rohkem puude esinemine, mida oli rohkem linnas pesitsevate lindude territooriumil. Mõõdeti ka müra taset, kuid mõju oli väiksem võrreldes rohukatte olemasoluga ja varem mainitud puude esinemisega. Beeta mitmekesisuse erinevust erinevate keskkondade lindude vahel mõjutas samuti peamiselt puude esinemine ja antud muutused seisnesid haruldaste bakterite olemasolus, mis näitab, et erinevas keskkonnas elavatel isenditel esines sarnane baas-mikrobioom. Linnas mõjutasid isendite vahelisi muutusi alpha mitmekesisuses peamiselt morfoloogilised tegurid (näiteks noka suurus) ja looduslikumas keskkonnas elavatel isenditel rohukatte esindatus territooriumil. Linnas elavatel lindudel oli suurem mikrobioomi bakterite liigirikkus. Autorite arvates võisid antud tulemusi põhjustada valikusurve varieerumine erinevas keskkonnas elavate isendite vahel.

5.3 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed roomajatel

Hiljutine uuring (MacLeod et al., 2021) andis ülevaate seostest sisaliku *Sceloporus undulatus*'e mikrobioomi ja CORT-i taseme vahel. Samuti vaadeldi mõlema näitaja seoseid gestatsiooniga, sest mikrobioomi koosseisus leiavad aset muutused gestatsiooni erinevatel etappidel. Sisalikud jagati kahte gruppi seesamiseemneõlis sisalduva CORT-i põhjal. CORT-i manustamine ei mõjutanud mitte-viljastunud sisalike mikrobioomi alpha mitmekesisust. Hilises gestatsioonifaasis ilmnes CORT-i positiivne mõju mikrobioomi mitmekesisusele. Antud tulemus läheb vastuollu tavapärase tulemusega, mille põhjal väheneb stressi tõttu (positiivses korrelatsioonis CORT-i tasemega) mikrobioomi mitmekesisus (näiteks Stothart et al., 2016). Samas võib kroonilise stressi tõttu CORT-i tase alaneda (Mindus et al., 2021). Autorite arvates võis olla üks põhjustest gestatsiooni pärssiv mõju immuunsüsteemile ja sellega seotud CORT. CORT-i tarbinud mitte-viljastatud sisalikel vähenes indiviididevaheline mikrobioomi beeta mitmekesisus, kuid mõju puudus viljastatud sisalikel. Esinesid erinevused katse- ja kontrollgrupi mikrobioomi koosseisus, näiteks *Anaerofustise*' suhteline esindatus oli suurem CORT-i saanud sisalike seas võrreldes kontrollgrupiga. Kokkuvõttes sõltus CORT-i mõju mikrobioomile viljastatusest ja gestatsioonietapist.

5.4 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed imetajatel

5.4.1 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed närilistel

Lactobacillus rhamnosus vähendas ärevuse ja stressiga seotud käitumist isastel hiirtel uitnärvi vahendusel GABA retseptorite kaudu (Bravo et al., 2011). Stressi ja ärevuse mõõtmiseks kasutati kõrgendatud pluss labürinti (ingl. k. *elevated plus maze*), sundujumise katset (ingl. k. *forced swim test*) ja avatud välja testi (ingl. k. *open field test*). Kõrgendatud pluss labürint on "+"-kujuline ja koosneb neljast harust, millest kaks vastastikku olevat haru on avatud ja teised kaks vastastikku olevat haru on külgedelt suletud, lisaks on labürindi keskel keskpunkt. Labürint on põrandast kõrgemale tõstetud ehk ärevust tekitab kõrgusekartus. Antud testis asetatakse hiired individuaalselt labürindi keskpunkti ja jälgitakse nende liikumist. Sundujumise katses asetatakse hiired individuaalselt silindri kujulisse veenõusse ja mõõdetakse kui kaua nad püüavad põgeneda (ujumine ja ronimine) ja kui kaua nad on liikumatud. Probiotikumi saanud hiired külastasid kõrgendatud pluss labürindis rohkem avatud harusid ja olid vähem aega liikumatud sundujumise katses võrreldes kontrollgrupiga.

Avatud välja testis asetatakse hiired individuaalselt piiratud alale, mis on jagatud ruutudeks ja jälgitakse nende liikumist ning erinevates piirkondades veedetud aega. Antud meetodi puhul on keskmisel alal veedetud aeg seotud väiksema ärevusega, sest avatud ala on evolutsiooniliselt seotud kiskjale nähtav olemisega. Avatud ala katses veetsid probiootikumi saanud hiired rohkem aega areeni keskel. Katsegrupi hiirtel oli madalam stressi tõttu tekkinud CORT-i tase võrreldes kontrollgrupiga, mis võib selgitada nende reaktsiooni stressikatsetes.

Burokas jt (2017) valisid vähem levinud meetodi mikrobioomi ja käitumiste vaheliste seoste uurimiseks isastel hiirtel kasutades prebiootikume. Prebiootikumid on ained, mis mõjutavad mikrobioomi aktiivsust ja koosseisu toetades organismile kasulike bakterite arvukust. Antud uuringus kasutati galakto-oligosahhariidide (GOS), frukto-oligosahhariidide (FOS) ja mõlemat korraga (FOS+GOS). Prebiootikumi saanud gruppide mikrobioomi beeta mitmekesisus, mis iseloomustab kahe erineva proovi vahelist erinevust või sarnasust, erines oluliselt kontrollgrupi omast, mis on oodatav seoses prebiootikumide mõjuga.

Stressireaktsiooni hindamiseks kasutati avatud välja testi, milles prebiootikumide segu tarbinud hiired külastasid rohkem avatud välja keskpunkti ja kõrgendatud pluss labürindi testi, milles prebiootikume tarbinud hiired külastasid rohkem avatud harusid. Veel kasutati kuulikese kaitsva matmise testi (ingl. k. *defensive marble burying test*), mis põhineb asjaolul, et rotid/hiired matavad kuulikesi ja rohkemate kuulikeste matmine korreleerub kõrgema ärevusega. Prebiootikume saanud hiired matsid maha vähem kuulikesi. Sundujumise katses olid kõik prebiootikumi saanud hiired vähem aega liikumatud ja neil oli madalam CORT-i tase peale katse läbimist võrreldes kontrollgrupiga. Saba hoidmise katses vähendas liikumatust GOS+FOS manustamine. Mõlema prebiootikumi manustamine (GOS+FOS) mõjutas positiivselt GABA retseptoritega seotuid geene ja BDNF-i tootmist hipokampuses, mida mõjutavad ka probiootikumid (Borrelli et al., 2016; Bravo et al., 2011). Ajus toodetud serotoniini hulk suurenes gruppides FOS+GOS ja FOS. Serotoniini hulk ajus on probiootikumide tõttu tõusnud mitmes varasemas uuringus (Borrelli et al., 2016; Davis et al., 2016), mis viitab teatud kattuvustele pre- ja probiootikumide toimes. Lühikese ahelaga rasvhapetest suurenes prebiootikumi tarbinud hiirtel propionaadi tootmine (Burokas et al., 2017), mis võis kaudselt vähendada ärevust metabolismi toetamise kaudu (Silva et al., 2020).

Antud uuringu raames viidi läbi ka teine katse, mille puhul jagati hiired kolme gruppi: kontrollgrupp, psühhosotsiaalset stressi kogenud hiired (katsegrupp 1) ja stressi kogenud prebiootikumide segu saanud hiired (katsegrupp 2). Prebiootikumide tarbimine leevendas

psühhosotsiaalse stressi mõju sotsiaalsete kontaktide arvule. Stressor halvendas pikaajalist mälu, mida mõõdeti uudse objekti äratundmise katses (ingl. k. *novel object recognition test*), kuid prebiootikumide tarbimine leevendas stressori mõju antud testis. *Lactobacillus plantarum*'i positiivset mõju mälule on täheldatud inimestel (Lew et al., 2019, Ma et al., 2021), mis viitab asjaolule, et pre- kui probiootikumid võivad tugevdada kognitiivseid funktsioone. Anhedoonia ehk huvide kadumise hindamiseks kasutati viljaka emase uriini nuusutamise testi (ingl. k. *female urine sniffing test*). Psühhosotsiaalset stressi kogenud hiired, kes ei saanud probiootikume nuusutasid vähem aega emase uriini, matsid rohkem kuulikesi ning olid kõrgendatud pluss labürindi katses vähem aega avatud harudel. Prebiootikumid vähendasid saba hoidmise katses liikumatuna olevat aega ja suurendasid liikumist sundujumise katses. Prebiootikumi saanud hiirtel oli väiksem basaalne CORT-i tase võrreldes esimese katsegrupi hiirtega. Katse- ja kontrollgrupil oli kõrgem *Lactobacillus*'e kontsentratsioon võrreldes psühhosotsiaalset stressi kogenud hiirtega.

Lactobacillus rhamnosus ja *Lactobacillus helveticus* vähendasid vastsündinud Sprague-Dawley rottidel emast eemaldamise tagajärjel tekkinud kahju (Gareau et al., 2007). Emast eemaldamise tõttu suurenes katsegrupi rottide HPA-telje aktiivsus, mida näitas CORT-i taseme tõus. Emast eemaldatud rottidel vähenes perekonda *Lactobacillus* kuuluvate bakterite arvukus viiekordselt võrreldes mitte eraldatud vastsündinutega ja käärsooles suurenes immuunsüsteemi nõrgestavate bakterite hulk. Probiootikumide manustamine leevendas manitud tagajärgesid ja mõju püsis ka täiskasvanud rottidel. Mikrobioomi ja vastsündinu arengu vahelisi seoseid on täheldatud ka inimesel (Wang et al., 2018). Veel on leitud, et emasorganismi sünnituseelne stressitase mõjutab väikelapse mikrobioomi arengut, mis omakorda on seoses väikelapse immuunsüsteemi funktsioneerimise ja HPA-telje aktiivsusega (Brennan et al., 2019).

Hadizadeh jt (2019) uurisid sünnieelse mürastressi mõju Wistar rottide järglaste HPA-telje aktiivsusele ja käitumisele. Stressi mõjude leevendamise uurimiseks kasutati probiootikume *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus acidophilus* ja *Bifidobacterium lactis*. Nii mürastressi kogunud rotid kui kontrollgrupi rotid jagati omakorda kolme rühma, kes said probiootikume vastavalt raseduse alguses, ei saanud probiootikume ja said probiootikume raseduse hilisemas faasis. Stressi kogenud ja probiootikume saanud rottide järglased külastasid rohkem avatud harusid kõrgendatud pluss labürindis ning veetsid seal rohkem aega võrreldes stressi kogenud rottide järglastega, kes ei saanud probiootikume. Probiootikumid leevendasid stressi

mõju Morrise veelabürindi katses, millega hinnatakse ruumilist mälu. Kontrollgrupis probiootikume mitte saanud rottide järglaste CORT-i tase oli analoogne probiootikumi saanud ning stressi kogunud rottide järglaste omaga, mis näitab, et probiootikumid leevendasid müra stressi mõjusid. Need tulemused on kooskõlas mitmete varasemate uuringutega (Jašarević et al., 2018; Zhang et al., 2021), mis on näidanud ema stressitaseme mõju järglastele hiirtel ja selle seoseid mikrobiomiga, mille analüüsimine antud uuringus oleks andnud detailsema ülevaate probiootikumide mõjudest.

Bailey jt (2011) uurisid muutusi CD-1 isaste hiirte mikrobiotas sotsiaalse stressi tagajärjel, mida tekitas agressiivne hiir, kes paigutati hiirte puuri. Aggressor kakles teiste hiirtega 6 päeval kestusega kaks tundi päevas. Sotsiaalse stressi tagajärjel vähenes mikroobide üldine mitmekesisus. Koheselt peale stressi suurenes *Clostridium*'i arvukus ja vähenes *Bacteroides*' arvukus. Muutused mikrobiomis olid suurimad kohe peale stressori mõju ja vähenesid aja jooksul, mis kattub uuringuga piimkaladel (Hassenrück et al., 2021). Stressi tõttu tõusis hiirtel immuunsüsteemi valkude tsütokiinide arv ja suurenes immuunsüsteemi kaitsereaktsioon, kuid antud mõjud kadusid antibiootikumide tarbimisel (Bailey et al., 2011). Antud tulemustest järeldub, et antibiootikumide tarbimine vähendas stressi tagajärjel tekkinud muutusi hiirte immuunsüsteemi aktiivsuses.

Uuring isastel Sprague-Dawley rottidel (Kelly et al., 2016) näitas, et kandes üle depressiivsete inimeste mikrobiomi väljaheidete siirdamise kaudu mikroobivabadele rottidele tekkisid neil depressioonile omased füsioloogilised ja käitumuslikud tunnused-suurenesid ärevuskäitumine ja anhedoonia. Katsegrupi rotid veetsid vähem aega avatud ala keskel avatud välja testis ja külastasid vähem avatud harusid kõrgendatud pluss labürindis võrreldes rottidega, kellele siirdati tervete inimeste mikrobiom. Samuti tarbisid nad vähem sahharoosi sahharoosi eelistuse testis, mis viitab anhedooniale. Kontrollgrupi ja katsegrupi rottide vahel ei esinenud statistiliselt olulisi erinevusi sundujumise katses, mis on erinev mitmetest varasematest uuringutest (Bravo et al., 2011; Burokas et al., 2017), kus mikrobiomi manipulatsioon vähendas liikumatust antud katses. Samuti ei esinenud olulisi erinevusi katsegrupi ja kontrollgrupi rottide plasma CORT-i tasemes ja BDNF-i ekspressioonis. Kokkuvõttes võib öelda, et depressioon oli seotud kõhu mikrobiomi väiksema arvukuse ja väiksema mitmekesisusega. Perekonna tasandil vähenes rottidel depressioonis inimeste väljaheidete siirdamise tõttu näiteks *Bifidobacterium*'i osatähtsus, mida on seostatud GABA sünteesimisega (Barrett et al., 2012; Wall et al., 2014). Suurenes

Staphylococcus'e arvukus, mis vähenes probiootikume tarbinud kuld-merekogre kalamaimudel ja on potentsiaalselt patogeenne (Rollo et al., 2006).

Crumeyrolle-Arias jt (2014) võrdlesid tavaliste rottide ja mikroobivabade F344 rottide käitumist ning leidsid, et viimastel esines avatud välja katse tõttu suurem CORT-i taseme tõus, mis väljendab HPA-telje aktiivsust. Mikroobivabad rotid veetsid rohkem aega välja nurkades ja külastasid vähem avatud välja avatud välja testis võrreldes kontrollgrupi rottidega. See on vastupidine uuringu tulemustega, kus leiti, et mikroobivabad hiired külastasid rohkem avatud välja (Heijtz et al., 2011), mis näitab, et erinevatel liikidel võib mikrobiomi puudumine põhjustada erinevat käitumist. Esimese 2 minuti jooksul nuuskisid mikroobivabad rotid vähem teist mikroobivaba rotti kui võrrelda antud tulemust tavaliste rottide üksteise nuuskimisega. Antud käitumisest järeldeb, et mikroobivabad rotid olid kartlikumad teise rotiga kohtudes, mis võis olla samuti seotud suurema HPA-telje aktiivsusega, sest selle liigset aktivatsiooni on seostatud ärevusega (Morais et al., 2021; Sapolsky, 2004).

5.4.2 Mikrobiomi ja stressi vahelised seosed teistel imetajatel

Hiljutine uuring (Yan et al., 2021) võrdles vangistuses üles kasvanud ja kaubandusest päästetud Jaava soomusloomade (*Manis javanica*) mikrobiomi ja CORT-i taset. Kaubandusest päästetud soomusloomadel oli madalam CORT-i tase kui vangistuses üles kasvanud soomusloomadel. Antud tulemus on vastuolus autorite algse hüpoteesiga, kuid nende arvates võib üks põhjustest olla krooniline stress, mille tõttu vähenes HPA-telje aktiivsus. Kroonilise stressi rolli stressihormooni alanemisel toodi välja ka uuringus kodukanadel (Mindus et al., 2021). Vangistuses üles kasvanud soomusloomadel oli mitmekesisem mikrobiom. Mõlemas grupis oli kõige levinumad *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* ja *Firmicutes*, kuid nende suhteline arvukus oli erinev. Hõimkonna tasandil oli suurem vangistuses kasvanud soomusloomade *Bacteroidetes'e* arvukus, vastupidine trend esines *Firmicutes'* arvukuses. Huvitav on asjaolu, et kaubandusest päästetud soomusloomadel oli suurem *Lactobacillus'e* arvukus, mida seostatakse tavaliselt organismi parema seisundiga (näiteks Bravo et al., 2011; Lew et al., 2019), mis võisid autorite arvates olla põhjustatud erinevustest toitumises (Yan et al., 2021). Kokkuvõttes võib öelda, et kroonilise stressi tõttu vähenes Jaava soomusloomade mikrobiomi mitmekesisus ja ellujäämine.

Stothart jt (2019) leidsid, et muutused hallorava (*Sciurus carolinensis*) mikrobioomis keskkonna muutuse tagajärjel on suuremal määral mõjutatud HPA-telje aktiivsusest kui välistest keskkonna tingimustest. Keskkonna mõju ja variatiivsuse hindamisel võrreldi linnas ning looduslikus keskkonnas vabalt elavaid isendeid. HPA-telje aktiivsust mõõdeti väljaheidetes leiduvate CORT-i ainevahetusproduktide, lümfotsüütide ja neutrofiilide suhte ning karvkatte CORT-i taseme põhjal, millest viimane oli kõige rohkem seotud mikrobioomiga. Näiteks esines negatiivne korrelatsioon *Akkermansiaceae'* ja HPA-telje aktiivsuse vahel mõõdetud karvkatte CORT-i taseme põhjal. CORT-i tase oli seotud varieeruvusega hõimkonna tasandil, kuid keskkonna mõju ilmnes lähedalt suguluses olevatel taksonitel. Seega mõjutab keskkond mikrobioomi peamiselt kaudselt HPA-telje ja teiste füsioloogiliste mehhanismide kaudu.

HPA-telje seoseid mikrobioomiga on uuritud looduslikul Ameerika punasel oraval (*Tamiasciurus hudsonicus*), kus kasutati sarnaselt uuringuga halloraval (Stothart et al., 2019) CORT-i ainevahetusproduktide hindamist (Stothart et al., 2016). Bakteriaalne mitmekesisus oli negatiivses korrelatsioonis CORT-i tasemega, mis on kooskõlas uuringuga Jaava soomusloomal (Yan et al., 2021). *Pasteurellaceae'*, mis võib olla peremeesorganismile kahjulik, suhteline küllus oli positiivses korrelatsioonis CORT-i tasemega. See on kooskõlas Rollo jt (2006) uuringuga, kus leiti, et stressi tagajärjel suurenes kahjulike bakterite arvukus. Autorite arvates võis muutuseid mikroorganismide koosseisus põhjustada HPA-telje suurenenud aktiivsus, mille tõttu vähenes taksonite arvukus ja suurenes peremeesorganismi immuunsüsteemi nõrgestavate bakterite hulk.

5.4.3 Mikrobioomi ja stressi vahelised seosed inimestel

Lew jt (2019) leidsid, et probiootikumi *Lactobacillus plantarum'* tarbimine vähendas ärevuse ja stressiga seotud sümptomeid, tugevdas mälu ja alandas põletikuga seotud biomarkereid. Täpsemate põhjuste leidmiseks korraldati järeluurimine (Ma et al., 2021), millest selgus, et probiootikumi tarbinud inimestel suurenes seedesüsteemis järgnevate bakterite arvukus: *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis* ja vähenes järgnevate bakterite arvukus: *Fusicatenibacter saccharivorans*, *Roseburia faecis*. Probiootikumi manustamise tõttu suurenes GABA ja lühikese ahelaga rasvhapete süntees. Varasemas uuringus hiirtel leiti, et lühikese ahelaga rasvhapete tarbimine vähendas stressi poolt põhjustatud kahjusid seoses

soolestiku läbilaskvuse ja tasu-otsimise käitumisega (van de Wouw et al., 2018). Seega võis lühikeste ahelaga rasvhapete tõus mõjutada antud katses (Lew et al., 2019) ilmnenud muutusi, samuti on varasemad uuringud välja toonud nende tähtsuse organismi erinevate funktsioonide tagamisel (Silva et al., 2020). GABA ärevust vähendav mõju on saanud kinnitust uuringus hiirtel, kus probiootikumina oli samuti kasutusel *Lactobacillus'e* perekonda kuuluv bakter (Bravo et al., 2011). Samas leiti Kelly jt (2017) uuringus, et *Lactobacillus rhamnosus* ei mõjutanud oluliselt stressi ja põletikuga seotud biomarkereid.

Jaapani meditsiinitudengitel korraldatud uuringus (Nishida et al., 2017) leiti, et *Lactobacillus gasseri'* CP2305 manustamine parandas une kvaliteeti ja vähendas depressiivset meeleolu, sülje CORT-i taset ning ärevust võrreldes platseeboga. *Lactobacillus'e* bakterid võivad võimendada GABA tootmist (Bravo et al., 2011), mis on tähtis une soodustamisel (Gottesmann, 2002) ning seega võis mõju unele avalduda antud neurotransmitteri kaudu. Une mõjutamine võis toimuda mõne teise mehhanismi kaudu, sest antud uuringutes (Bravo et al., 2011; Nishida et al., 2017) kasutati erinevaid *Lactobacillus'e* tüvesid. Samuti on leitud, et *Lactobacillus brevis* osaleb GABA sünteesimises (Barrett et al., 2012).

Romijn jt (2017) leidsid, et *Bifidobacterium longum'i* ja *Lactobacillus helveticus'e* tarbimine ei vähendanud madalat meeleolu ja ei muutnud oluliselt põletikuga seotud biomarkereid. Autorid toovad välja, et antud tulemuste põhjuseks võis olla väike valim, sekkumise ajaline kestvus, madala meeleoluga seotud näitajad ja kasutatud probiootikumid. Antud uuringu tulemused näitavad, et probiootikumide tarbimine ei pruugi alati leevendada stressi, mida on leitud mitmetes varasemates uuringutes inimestel (Lew et al., 2019; Nishida et al., 2017) ja loomuuringutes (Borrelli et al., 2016; Gareau et al., 2007; Gonçalves et al., 2011). Siiski on leitud ka vastupidiseid tulemusi, mis näitavad, et probiootikumid ei vähenda stressi inimestel (Kelly et al., 2017). Varasemale uuringule (Akkasheh et al., 2016) toetudes tuuakse välja, et probiootikumid võivad olla sobilikud depressiooni lisaraviks (Romijn et al., 2017). Akkasheh jt (2016) uuringus said depressioonis inimesed kaheksa nädala jooksul probiootikume *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* ja *Bifidobacterium bifidum*, mille tarbimisel vähenesid skoorid Becki depressiooni küsimustikus võrreldes platseebot saanud inimestega.

Tabel 1. Ülevaade mikrobioomi manipuleerimise ja stressorite mõjust biomarkeritele ja käitumisele lähtuvalt üksikuurimustest. “-” tähistab, et vastavat tunnust ei vaadeldud.

Looma- rühm/ Liik	Mikrobioomi manipulatsioon	Stressiallikas	Mõju biomarkeritele	Mõju käitumisele	Viide
Kala/ <i>Danio rerio</i>	Probiotikum <i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i>	uudsesse akvaariumisse sukeldumise katse, krooniline ettearvamatu stress	suurenen serotoniini süntees ajus	veedeti rohkem aega veenõu ülemistes kihtides uudsesse akvaariumi sukeldumise katses, leevendas stressi tagajärgseid kõhu mikrobioomile	Davis et al., 2016
Kala/ <i>Danio rerio</i>	Probiotikum <i>Lactobacillus</i> <i>ramnosus</i>	- (liikumiskäitu mise jälgimine parves, mitmete biomarkerite mõõtmise)	suurenened BDNF-i tase ja serotoniini süntees ajus	suurenen üldine aktiivsus, eelistati veeanuma keskmisi ja madalamaid piirkondasid	Borrelli et al., 2016
Kala/ <i>Oreochromis niloticus</i>	Probiotikum <i>Lactobacillus</i> <i>ramnosus</i>	kitsas veeanum	suurenened kasvamise ja metabolismiga seotud biomarkerid	-	Gonçalves et al., 2011
Kala/ <i>Sparus</i> <i>aurata</i>	Probiotikum <i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>fructivorans</i>	pH taseme muutus	alandas CORT-i taseme tõusu	-	Rollo et al., 2006
Närliline/ BALB/c hiir	Probiotikum <i>Lactobacillus</i> <i>ramnosus</i>	kõrgendatud pluss labürint, avatud välja test, sundujumise katse	alanes CORT-i tase	küllastasid rohkem avatud ala kõrgendatud pluss labürindis, olid vähem aega liikumatud sundujumise katses, veetsid rohkem aega areeni keskel avatud välja testis	Bravo et al., 2011
Närliline/C5	Prebiotikumid	avatud välja	GOS+FOS	GOS+FOS grupi hiired	Burokas

7BL/6J hiir	frukto- oligosahhariid- id (FOS), galakto- oligosahhariid- id (GOS) või FOS+GOS	test, kõrgendatud pluss labürint, saba hoidmise katse, kuulikeste kaitsva matmise test, sundujumise katse	manustamine mõjutas positiivselt GABA retseptoritega seotuid geene ja BDNF-i tootmist hipokampuses, ajus toodetud serotoniini hulk suurenes gruppides FOS+GOS ja FOS, prebiootikumide tarbimine suurendas propionaadi tootmist	külastasid rohkem välja keskpunkti avatud välja testis, kõik prebiootikumide gruppide hiired külastasid rohkem avatud harusid kõrgendatud pluss labürindis, kuulikeste kaitsva matmise testis peitsid prebiootikumi saanud hiired vähem kuulikesi, GOS+FOS grupil vähenes liikumatus saba hoidmise katses, kõik prebiootikumi saanud grupid olid vähem aega liikumatud sundujumise katses	et al., 2017
Näriline/C5 7BL/6J hiir	Prebiootikumid FOS+GOS	krooniline psühhosot- siaalne stress- uudse objekti äratundmise katse, viljaka emase uriini nuusutamise test, kuulikeste kaitsva matmise test, avatud välja test, kõrgendatud pluss labürint, sundujumise katse, saba hoidmise	vähenes basaalne CORT-i tase	leevendas psühhosotsiaalse stressi mõju sotsiaalsete kontaktide arvule, leevendasid psühhosotsiaalse stressi mõjusid uudse objekti äratundmise katses, nuusutati kauem viljaka emase uriini, ei matnud rohkem kuulikesi stressi tõttu, külastasid rohkem avatud harusid ja veetsid seal rohkem aega kõrgendatud pluss labürindis, vähendasid liikumatuna olevat aega saba hoidmise katses, suurendasid liikumist sundujumise katses	Burokas et al., 2017- katse teine pool

		katse			
Näriline/ Sprague- Dawley rott	Probiootikum <i>Lactobacillus</i> <i>rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>helveticus</i>	emast eemaldami- sega seotud stress	vähenes tase ja suurenenud kleepuvate bakterite hulk jämesooles	-	Gareau et al., 2007
Näriline/ Wistar rott	Probiootikum <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>fermentum</i> , <i>Bifidobacteri- um lactis-</i> manustati emadele	sünnieelne mürastressi mõju järglastele, kõrgendatud pluss labürint, Morrise veelabürint	kontrollgrupi rottide tase oli analoogne raseduse alguses probiootikume saanud ja raseduse hilisemas faasis probiootikume saanud rottide järglaste omaga	probiootikumid suurendasid raseduse alguses probiootikume saanud ja raseduse hilisemas faasis rottide järglaste aega avatud alal võrreldes probiootikume mittesaanud rottidega, stressi tingimuse korral parandas tulemusi Morrise veelabürindis probiootikumi manustamine raseduse alguse probiootikume saanud ja raseduse hilisemas faasis rottide järglastel	Hadiza- deh et al., 2019
Näriline/ Sprague- Dawley rott	Tervete ja depressioonis inimeste väljaheidete siirdamine rottidele	kõrgendatud pluss labürint, avatud välja test, sundujumise katse, sahharoosi eelistuse test	katsegrupi rottidele, suurenes põletikuga seotud biomarkeri tase (C-reaktiivne valk), katsegrupi ja kontrollgrupi vahel puudusid statistiliselt olulised erinevused plasma CORT-i tasemes ja BDNF-i ekspressioonis	katsegrupi rottidel suurenesid ärevuskäitumine ja anhedoonia, katsegrupi rotid veetsid vähem aega avatud ala keskel avatud välja testis, külastasid vähem avatud harusid kõrgendatud pluss labürindis ja tarbisid vähem sahharoosi eelistuse testis, kontrollgrupi ja katsegrupi rottide vahel ei esinevad statistiliselt olulisi erinevusi sundujumise katses	Kelly et al., 2016

Lind/ Kodukana	Probiotikum <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	krooniline, korduv ettearvamat stress	immuunrakkude arvukuse tõus umbsooles ja põrnas	vähendas sulgede nokkimist (viitab väiksemale stressitasemele)	Mindus et al., 2021
Imetaja/ inimene	Probiotikum <i>Lactobacillus plantarum</i> P-8	stressis	suurenesid lühikese ahelaga rasvhapete ja GABA süntees, alanes CORT-i tase	vähenesid ärevuse ja stressiga seotud sümptomid, mälu paranes	Lew et al., 2019; Ma et al., 2021
Imetaja/ inimene	Probiotikum <i>Lactobacillus gasseri</i> CP2305	- (vaadeldi meditsiinitundengite meeleolu)	alandas sülje CORT-i taset	parandas une kvaliteeti, vähendas depressiivset meeleolu ja ärevust	Nishida et al., 2017
Imetaja/ inimene	Probiotikum <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>	depressioon	ei muutnud oluliselt põletikuga seotud biomarkereid	ei vähendanud madalat meeleolu	Romijn et al., 2017
Imetaja/ inimene	Probiotikum <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	depressioon	vähenesid oksüdatiivse stressiga seotud biomarkerid	depressioon vähenes	Akkasheh et al., 2016

6. Järeldused

Antud töös andsin ülevaate 24 üksikuurimusest erinevatel loomarühmadel, kus vaadeldi mikrobioomi seoseid käitumise, stressi või mõlemaga, eelistades viimaseid. 14 uuringus manipuleeriti eksperimentaalselt mikrobioomi ja koondasin antud tulemused tabelisse (tabel 1). Leidsin, et enamus uuringuid on tehtud laboriloomadel, lisaks on kõik mikrobioomi manipulatsiooni sisaldanud uuringud tehtud vangistuses üles kasvanud loomadel või laboriloomadel (v.a inimene) (tabel 1). Mikrobioomi manipulatsiooni puhul oli kõige levinum meetod mikrobioomi, stressi ja käitumiste vaheliste seoste uurimiseks probiootikumide manustamine (näiteks Bravo et al., 2011; Davis et al., 2016). See andis võimaluse analüüsida rohkem eksperimentaalseid uuringuid. Antibiootikumide manustamist on seostatud patogeenide hävitamisega (Ramirez et al., 2020), kuid antud töös pöörasin rohkem tähelepanu sümbioosile ja selle evolutsioonilisele kujunemisele (Roughgarden et al., 2018; Shapira, 2016; Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008). Vabalt elavatel loomadel on viidud ainult läbi korrelatiivseid uuringuid stressi ja mikrobioomi vahelistest seostest, kuid konkreetset käitumist ei ole nendes uuritud (Stothart et al., 2016; Stothart et al., 2019). Seega põhines antud töö peamiselt tehislikus keskkonnas üles kasvanud organismidel tehtud uuringutel ja analüüsis kui suurel määral on antud tulemused ülekantavad looduslikele organismidele.

Stressi taseme mõõtmiseks kasutati analüüsitud uuringutes käitumuslikke (stressikatsed) kui füsioloogilisi meetodeid (näiteks Burokas et al., 2017; Davis et al., 2016). Paljudes uuringutes leiti, et probiootikumid alandasid stressisituatsioonis CORT-i taset (näiteks Bravo et al., 2011; Gareau et al., 2007), mille puhul avaldus mõju kõhu-aju telje juurde kuuluva HPA-telje kaudu (Carabotti et al., 2015). CORT-i taseme otsese füsioloogilise mõõtmise plussideks on stressi võrdlemine enne ja pärast stressori ilmumist. CORT-i mõju loomade käitumisele tõlgendamist raskendavad tegurid on erinevused isendite CORT-i baastasemes ja stressihormooni taseme alanemine kroonilise stressi tõttu (Chrousos ja Gold, 1992; Mindus et al., 2021; Yan et al., 2021). Samuti on tähtis asjaolu, et CORT võib mõjuda põletikku pärssivalt kui ka soodustavalt (Yeager et al., 2010) ning võib seega aidata säilitada organismi homöostaasi (Munck et al., 1984). Samas kaasnesid mitmetes analüüsitud uuringutes CORT-i taseme langemisega positiivsed käitumuslikud ja füsioloogilised mõjud (näiteks Burokas et al., 2017; Ma et al., 2021; Nishida et al., 2017). Näiteks Nishida jt (2017) uuringus vähenes *Lactobacillus gasseri*' tarbimisel inimeste ärevus, depressiivne meeleolu ja paranes une kvaliteeti. Mitmetes uuringutes leiti, et seedesüsteemi mikrobioomi vähenenud mitmekesisus

on seotud stressoriga (Bailey et al., 2011; Kelly et al., 2016; Yan et al., 2021). Bailey jt (2011) uuringus põhjustas stressi agressiivne hiir, Yan jt (2021) uuringus röövkaubandus ja Kelly jt (2016) uuringus tekkisid rottidel depressiivsete inimeste väljaheidete siirdamise tagajärjel depressioonile omased tunnused. Kelly jt (2016) uuringus ei esinenud olulisi erinevusi katsegrupi ja kontrollgrupi rottide CORT-i tasemes. Jaava soomusloomadel tehtud uuringus oli madalam CORT-i tase seotud suurema mikrobioomi mitmekesisusega, kuid autorid põhjendavad CORT-i taseme alanemist kroonilise stressiga (Yan et al., 2021). Bailey jt (2011) uuringus suurenes stressi tagajärjel immuunsüsteemi valkude tsütokiinide arv, mis on positiivses seoses CORT-i tasemega (Steensberg et al., 2003). Seega on mainitud kolmes uuringus (Bailey et al., 2011; Kelly et al., 2016; Yan et al., 2021) esindatud kõik võimalikud tulemused seoses CORT-i tasemega, kuid tuleb mainida, et Kelly jt (2016) uuringus ei kasutatud käitumuslikku stressorit. Antud tulemustest järeldub, et CORT-i taseme ja stressi vaheliste seosed vajavad veel uurimist, kuid üldiselt on madalam CORT-i tase seotud paremate füsioloogiliste ja käitumuslike tunnustega.

Neurotransmitteritest olid analüüsitud uuringutes peamiselt fookuses serotoniin (näiteks Borrelli et al., 2016; Burokas et al., 2017), mis on õigustatud arvestades selle hulka seedesüsteemis (McLean et al., 2007; Nemoto et al., 1982) ja GABA (Bravo et al., 2011; Lew et al., 2019), mille üheks põhjuseks võis olla *Lactobacillus'e* ja *Bifidobacterium'i* mõju selle sünteesimisele, mida kasutati 12/14 mikrobioomi manipulatsiooni sisaldanud uuringutes (tabel 1). Samuti on mainitud neurotransmitterid seotud stressiga, mida näitab serotoniini (Sharp ja Barnes, 2020) ja GABA (Bravo et al., 2011) mõju ärevusele, mis mõjutab käitumist (Steimer, 2002) ja on positiivses korrelatsioonis CORT-i tasemega (Lenze et al., 2011; Mantella et al., 2008). Samuti on GABA närvisüsteemi peamine pidurdava toimega neurotransmitter (Wu ja Sun, 2015), mis viitab tema rollile organismi ergutavate reaktsioonide pärssimises, mille alla võib minna stressireaktsioon (Sheng et al., 2021; Taborsky et al., 2021). Serotoniinil on mitmeid funktsioone, mis võivad olla ergutava või pidurdava toimega (Sharp ja Barnes, 2020). Analüüsitud mikrobioomi manipulatsiooni sisaldanud uuringutes suurenes serotoniini hulk sebrakalade (Borrelli et al., 2016; Davis et al., 2016) ja hiirte ajus (Burokas et al., 2017). See on huvitav tulemus, sest seedesüsteemi mikrobioomi poolt toodetud serotoniin ei läbi vere-aju barjääri (El-Merahbi et al., 2015). Seedesüsteemi mikrobioom mõjutab ajus toodetud serotoniini selle eelkäija trüptofaani sünteesimise kaudu (Lukić et al., 2019) ja seega võis mõju avalduda selle kaudu. Kahjuks ei mõõdetud trüptofaani taset sebrakaladel tehtud uuringutes (Borrelli et al., 2016; Davis et al., 2016).

Seda mõõdeti uuringus hiirtel (Burokas et al., 2017), milles leiti, et prebiootikumide tarbimine vähendas trüptofaani taset, kuid see ei mõjutanud kesknärvisüsteemis oleva serotoniini hulka (Burokas et al., 2017). Mikrobioomi manipulatsiooni mõjude hindamisel neurotransmitteritele on vajalik täpsete mehhanismide väljaselgitamine erinevatel organismidel ja liikidel, sest sama bakteri mõju võib olla erinevatel liikidel (Bravo et al., 2011; Kelly et al., 2017). Mikrobioomi manipulatsiooni tagajärjel leidsid mainitud uuringutes aset veel teised muutused isendite füsioloogias ja käitumises, mille võimaliku vastastikmõju väljaselgitamine on vajalik neurotransmitterite mõju hindamiseks.

Laboriloomadel tehtud stressi, käitumise ja mikrobioomi vahelisi seoseid analüüsivate uuringute tulemusi ei saa otseselt üle kanda looduses elavatele organismidele ja seega on keeruline nende tõlgendamine lähtuvalt ökoloogilisest kontekstist. Laboriloomadel võivad esineda erinevused käitumises ja organismi füsioloogias võrreldes looduses elavate loomadega. Näiteks leidsid Koizumi jt (2018) erinevusi rändroti (*Rattus norvegicus*) laboris ja looduses üles kasvanud isendite aju ehituses, mis tegi viimased ettevaatlikumaks. Heijtz jt (2011) leidsid, et mikroobivabad hiired olid aktiivsemad kui tavalise kõhu mikrobioomiga hiired ja Borrelli jt (2016), et probiootikumi tarbimine suurendas sebrakalade aktiivsust, mis näitab, et mikroorganismid mõjuvad erinevalt sõltuvalt liigist. Seega avaldab peale loodusliku seisundi veel mõju analüüsitud liik. Samas võib püstitada hüpoteesi, et sama probiootikumi toime põhimõju võib olla samasuunaline looduslikus ja tehislikus keskkonnas üles kasvanud organismil. *Lactobacillus'e* perekonna bakterid osalevad GABA sünteesimises, mis on pidurdava toimega neurotransmitter ja vähendab ärevust (Bravo et al., 2011; Lew et al., 2019). Looduslikus keskkonnas üles kasvanud organismil võib antud probiootikumide tarbimisel olla üldine ärevust vähendav mõju, kuid see ei pruugi avalduda samas kontekstis, mis tehislikus keskkonnas tehtud katsetes. Tulemuste tõlgendamist lähtuvalt ökoloogilisest kontekstist raskendab veel asjaolu, et tehislikus keskkonnas kasutatavad stressikatsed ei kattu täielikult looduses esinevate stressoritega ja ei pruugi olla täpsed (Molendijk ja de Kloet, 2015). Näiteks võib liikumatus sundujumise katses, mida kasutati mitmes antud töös analüüsitud uuringus (Bravo et al., 2011; Burokas et al., 2017; Kelly et al., 2016), aidata rottidel kauem pinnal püsida ja seega on tegemist kohase reaktsiooniga (Molendijk ja de Kloet, 2015). Antud vaatepunktist lähtudes ei saa välistada, et antud katse võib mõõta mõnda veel seni tundmatut faktorit. Samas on mikrobioom tõenäoliselt seotud mõne mainitud faktoriga, sest kolmest uuringus kahes vähenes mikrobioomi manipulatsiooni tulemusel liikumatuna oleva aeg antud katses (Bravo et al., 2011; Burokas et al., 2017). Mikrobioomi

mõju avaldub tõenäoliselt aktiivsuse kaudu, mida kinnitavad uuringud sebrakaladel (Borrelli et al., 2016) ja hiirtel (Heijtz et al., 2011). Kokkuvõttes tuleb tulemuste tõlgendamisel arvestada erinevusi laboriloomade ja looduslike loomade vahel ning arvestada laboris tehtavate stressikatsete puudustega.

Samuti on keeruline kasutada mikrobioomi manipulatsiooni metsikutel loomadel.

Mikrobioomi koosseisu mõjutavate stressorite uurimine annab ülevaate teguritest, mis võivad mikrobioomi tasakaalu ohustada. Seda lähenemist kasutasid mitmed analüüsitud uuringud, kus ei kasutatud mikrobioomi manipulatsiooni (näiteks Bailey et al., 2011; Berlow, Wada, et al., 2021; Liu et al., 2022). Antud uuringuid iseloomustab stressorite homogeensus, näiteks uuriti müra (Berlow, Wada, et al., 2021), vee temperatuuri tõusu (Hassenrück et al., 2021; Liu et al., 2022), urbaniseerumisega seotud tegurite (Berlow, Phillips, et al., 2021) ja vangistuse (Yan et al., 2021) mõju mikrobioomile ning erinevatele biomarkeritele. Mainitud tegurite uurimine on tähtis kiirete muutuste ilmnemise tõttu loomade elukeskkonnas, millest osa on inimtekkelised. Näiteks muutub ookeanivesi kliimasoojenemise tõttu happelisemaks (McNeil ja Matear, 2006), mis põhjustab stressi näiteks kuld-merekogre kalamaimudel ja seega mõjutab nende ellujäämist (Rollo et al., 2006). Linnastumise tagajärjel on sunnitud mitmed liigid kohanema mürarikama keskkonnaga, mis näiteks vähendab toitumist ja suurendab CORT-i taset valgekiird-sidrikul (Berlow, Wada, et al., 2021). Samuti mõjutavad mikrobioomi koosseisu teised linnakeskkonnas esinevad keskkonna tegurid (Berlow, Phillips, et al., 2021), mis võivad omakorda mõjutada käitumist. Antud muutused võivad kahjustada kasulikke mikroobe, millest osa omandatakse keskkonnast horisontaalse ülekande kaudu (Roughgarden et al., 2018; Zilber-Rosenberg ja Rosenberg, 2008) ja võivad suurendada bakteri kui peremeesorganismi kohasust (Shapira, 2016; Storelli et al., 2011). Samuti võib keskkonna muutumine põhjustada mikrobioomi düsbioosi, mis vähendab organismi füsioloogilist ja käitumuslikku kohasust (Morais et al., 2021). Antud tulemus näitab looduskaitsemeetme tähtsust, mis aitavad säilitada loodusliku keskkonna liigirikust, mille vähenemine võib põhjustada mikrobioomi düsbioosi, mis muudab loomade käitumist ja teeb nad stressile vastuvõtlikumaks (näiteks Moustafa et al., 2021). Seega on mikrobioomi manipulatsioonita stressi mõju käsitlevad uuringud heaks lähtepunktiks mitmete keskkonnategurite mõju hindamisel looduslike kui vangistuses üles kasvanud isendite käitumuslikele ja füsioloogilistele näitajatele.

Analüüsitud uuringutest selgus, et käitumine ja mikrobioomi vaheline mõju on vastastikune. Stressi mõju mikrobioomile kinnitasid uuringud, kus uuriti selle seoseid mikrobioomi koosseisu, käitumise ja biomarkeritega (näiteks Liu et al., 2022; Yan et al., 2021). Mikrobioomi manipulatsiooni uuringud näitasid, et bakterid mõjutavad loomade käitumist ja füsioloogiat stressireaktsioonis (näiteks Bravo et al., 2011; Gonçalves et al., 2011). Mõlema mõju kombineerumist kinnitasid uuringud, kus vaadeldi korraga mikrobioomi koosseisu, käitumist, biomarkereid ja mõjutati otseselt mikrobioomi koosseisu. Antud tingimused olid täidetud näiteks Burokase jt (2017) uuringus. Samas võib mitme muutuja korraga mõjutamine raskendada tulemuste tõlgendamist, sest võib toimuda mitmete mõjude kombineerumine. Näiteks mõjutavad teineteist vastastikku hormoonid ja neurotransmitterid (Barth et al., 2015). Töös analüüsitud uuringutes mõjutas mikrobioom hormoonidest CORT-i (näiteks Nishida et al., 2017) ja neurotransmittereid GABA-t (näiteks Bravo et al., 2011) ning serotoniini (näiteks Davis et al., 2016). Mõlemat tüüpi uuringute läbiviimine on õigustatud, et selgitada välja mikrobioomiga seotud mehhanismid, mille avastamine võib parandada loomade kui inimeste heaolu.

Kokkuvõte

Mikrobiom on sümbiootiliste, kommensaalsete, patogeensete mikroorganismide kooslus ja nendega seotud geneetiline materjal. Suurem osa mikrobiomist paikneb seedesüsteemis ja selle koosseis varieerub sõltuvalt liigist, toitumisest, keskkonnatingimustest ning sündimisviisist. Mikrobiom osaleb seedimisprotsessides ja mõjutab immuunsüsteemi funktsioneerimist. Mikrobiom mõjutab stressiga seotud CORT-i ja neurotransmittereid GABA-t ning serotoniini.

Signaalide edastamine toimub kõhu-aju telje kaudu, mille tähtsaimad komponendid on uitnärv, mikroorganismide poolt toodetu metaboliidid ja HPA-telg, mis mõjutavad füsioloogilist ja käitumuslikku reaktsiooni stressile, mis on evolutsiooni jooksul välja kujunenud, et tagada organismide ellujäämine. Hologenoomi teooria kohaselt on peremeesorganismi ja tema mikroorganismide geneetiline materjal mõjutatud sama evolutsioonilise valiku poolt ning seega iseloomustab neid ühtne käitumuslik reaktsioon stressile.

Antud töös analüüsisin 24 üksikuurimust, mis keskendusid stressi, käitumise ja mikrobiomi vaheliste seoste uurimisele erinevatel loomarühmadel. 14 uuringus manipuleeriti eksperimentaalselt mikrobiomi, millest 12 ilmnis stressi mõjude leevendamine. Kõik mikrobiomi manipulatsiooni uuringud olid tehtud tehnilikus keskkonnas üles kasvanud organismidel, kellel esinevad erinevused käitumises/füsioloogias võrreldes looduslike organismidega, mis raskendab antud tulemuste tõlgendamist lähtuvalt ökoloogilisest kontekstist. Ülejäänud uuringutes vaadeldi mikrobiomi seoseid stressi ja käitumise või mõlemaga laboriloomadel kui looduslikel organismidel, mis annab ülevaate spetsiifilistest stressoritest, mille vähendamine suurendab liikide ellujäämist. Antud uuringud on aktuaalsed kiirete muutuste ilmnemise tõttu loomade elukeskkonnas, mis mõjutavad füsioloogilist ja käitumuslikku reaktsiooni stressile.

Antud töös analüüsitud uuringutest selgus, et käitumine ja mikrobiom mõjutavad üksteist vastastikku. Stressi mõju mikrobiomile näitasid uuringud, kus analüüsi selle mõju mikrobiomi koosseisule, käitumisele ja biomarkeritele. Mikrobiomi manipulatsiooni uuringud kinnitasid bakterite mõju loomade käitumisele ja füsioloogiale stressireaktsioonis. Mõlemat lähenemist kombineerivate tulevaste uuringute läbiviimine on õigustatud, et selgitada välja sellega seonduvad täpsed mehhanismid.

Summary

Effect of microbiome on animal behaviour under stress

Microbiome is a community of symbiotic, commensal, pathogenic microorganisms and related genetic material. Most of the microbiome is located in the digestive system and its composition varies depending on the species, diet, environmental conditions and mode of birth. Microbiome is involved in digestive processes and influences immune system functioning. Microbiome has an effect on the stress-related CORT and neurotransmitters GABA and serotonin.

Signaling occurs through the gut-brain axis, which most important components are the vagus nerve, microbially derived metabolites and the HPA axis, which affect physiological and behavioural response stress that has evolved during evolution to ensure the survival of organisms. According to the hologenome theory genetic material of the host and its microorganisms are affected by the same evolutionary selection and thus are characterised by a uniform behavioural response to stress.

In this thesis I analysed 24 case studies that focused on the relationship between stress, behaviour and the microbiome in different groups of animals. In 14 studies the microbiome was experimentally manipulated, 12 of which showed attenuation from the effects of stress. All microbiome manipulation studies were performed on animals grown in artificial environments, who have differences in behaviour/physiology compared to wild organisms, which makes it difficult to interpret these results in an ecological context. In the rest of the studies microbiome links to behaviour and stress or both were examined in laboratory animals as well as in natural organisms which provides an overview of specific stressors, whose reduction increases the survival of the species. These studies are topical due to the rapid changes in the living environment of animals which affect the physiological and behavioural reaction to stress.

The studies analysed in this work revealed that behaviour and microbiome interact with each other. The effects of stress on the microbiome was shown in studies that analysed its effects on microbiome composition, behaviour and biomarkers. Microbiome manipulation studies confirmed the effect of bacteria on animal behaviour and physiology in stress response.

Future research combining both approaches is warranted to find precise mechanisms involved.

Tänuavaldused

Soovin tänada oma juhendajat Mari-Ann Lindu, kelle kommentaarid ja toetav suhtumine aitasid kaasa töö valmimisele.

Kasutatud kirjandus

Viitamisel ja kirjanduse loetelu vormistamisel on lähtutud APA nõuetest.

Akkasheh, G., Kashani-Poor, Z., Tajabadi-Ebrahimi, M., Jafari, P., Akbari, H., Taghizadeh, M., Memarzadeh, M. R., Asemi, Z., Esmailzadeh, A. (2016). Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*, 32(3), 315–320. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.09.003>

Albert, P. R., Benkelfat, C., Descarries, L. (2012). The neurobiology of depression—revisiting the serotonin hypothesis. I. Cellular and molecular mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1601), 2378–2381. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0190>

Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G., Yamasaki, S., Saito, T., Ohba, Y., Taniguchi, T., Takeda, K., Hori, S., Ivanov, I. I., Umesaki, Y., Itoh, K., Honda, K. (2010). Induction of Colonic Regulatory T Cells by Indigenous Clostridium Species. *Science*, 331(6015), 337–341. <https://doi.org/10.1126/science.1198469>

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. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.10.023>

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*, 116(5), 1384–1386. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x>

Barth, C., Villringer, A., Sacher, J. (2015). Sex hormones affect neurotransmitters and shape the adult female brain during hormonal transition periods. *Frontiers in Neuroscience*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00037>

Baugh, A. T., van Oers, K., Naguib, M., Hau, M. (2013). Initial reactivity and magnitude of the acute stress response associated with personality in wild great tits (*Parus major*).

General and Comparative Endocrinology, 189, 96–104.

<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.04.030>

Berlow, M., Phillips, J. N., Derryberry, E. P. (2021). Effects of Urbanization and Landscape on Gut Microbiomes in White-Crowned Sparrows. *Microbial Ecology*, 81(1), 253–266. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01569-8>

Berlow, M., Wada, H., Derryberry, E. P. (2021). Experimental Exposure to Noise Alters Gut Microbiota in a Captive Songbird. *Microbial Ecology*.

<https://doi.org/10.1007/s00248-021-01924-3>

Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., ... Schloter, M. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges.

Microbiome, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>

Borrelli, L., Aceto, S., Agnisola, C., De Paolo, S., Dipineto, L., Stilling, R. M., Dinan, T. G., Cryan, J. F., Menna, L. F., Fioretti, A. (2016). Probiotic modulation of the microbiota-gut-brain axis and behaviour in zebrafish. *Scientific Reports*, 6(1).

<https://doi.org/10.1038/srep30046>

Borre, Y. E., O’Keeffe, G. W., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., Cryan, J. F. (2014). Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders.

Trends in Molecular Medicine, 20(9), 509–518.

<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.05.002>

Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Bienenstock, J., Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38), 16050–16055.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108>

Breit, S., Kupferberg, A., Rogler, G., Hasler, G. (2018). Vagus Nerve as Modulator of the Brain–Gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders. *Frontiers in Psychiatry*,

9. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00044>

- Brennan, P. A., Dunlop, A. L., Smith, A. K., Kramer, M., Mulle, J., Corwin, E. J. (2019). Protocol for the Emory University African American maternal stress and infant gut microbiome cohort study. *BMC Pediatrics*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12887-019-1630-4>
- Burokas, A., Arboleya, S., Moloney, R. D., Peterson, V. L., Murphy, K., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., Cryan, J. F. (2017). Targeting the Microbiota-Gut-Brain Axis: Prebiotics Have Anxiolytic and Antidepressant-like Effects and Reverse the Impact of Chronic Stress in Mice. *Biological Psychiatry*, 82(7), 472–487. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.12.031>
- Bäckhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., Gordon, J. I. (2005). Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science*, 307(5717), 1915–1920. <https://doi.org/10.1126/science.1104816>
- Bäumler, A., Sperandio, V. (2016). Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature*, 535, 85–93. <https://doi.org/10.1038/nature18849>
- Cannon, W. B. (1915). *Bodily changes in pain, hunger, fear, and rage*. D. Appleton & Company.
- Carabotti, M., Scirocco, A., Severi, Maselli, M. A., Severi, C. (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals Gastroenterology*, 28(2), 203–209.
- Checkley, S. (1996). The neuroendocrinology of depression and chronic stress. *British Medical Bulletin*, 52(3), 597–617. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a011570>
- Chrousos, G. P., Gold, P. W. (1992). The Concepts of Stress and Stress System Disorders. *JAMA*, 267(9), 1244-1252. <https://doi.org/10.1001/jama.1992.03480090092034>
- Crumeyrolle-Arias, M., Jaglin, M., Bruneau, A., Vancassel, S., Cardona, A., Daugé, V., Naudon, L., Rabot, S. (2014). Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 42, 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.01.014>

- Cummings, J. H. (1981). Short chain fatty acids in the human colon. *Gut*, 22(9), 763–779.
<https://doi.org/10.1136/gut.22.9.763>
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559–563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>
- Davis, D. J., Doerr, H. M., Grzelak, A. K., Busi, S. B., Jasarevic, E., Ericsson, A. C., Bryda, E. C. (2016). *Lactobacillus plantarum* attenuates anxiety-related behavior and protects against stress-induced dysbiosis in adult zebrafish. *Scientific Reports*, 6(1).
<https://doi.org/10.1038/srep33726>
- Dunn, R. R., Amato, K. R., Archie, E. A., Arandjelovic, M., Crittenden, A. N., Nichols, L. M. (2020). The Internal, External and Extended Microbiomes of Hominins. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 8. <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00025>
- El-Merahbi, R., Löffler, M., Mayer, A., Sumara, G. (2015). The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *FEBS Letters*, 589(15), 1728–1734.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.05.054>
- Foster, J. A., Rinaman, L., Cryan, J. F. (2017). Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. *Neurobiology of Stress*, 7, 124–136.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2017.03.001>
- Gareau, M. G., Jury, J., MacQueen, G., Sherman, P. M., Perdue, M. H. (2007). Probiotic treatment of rat pups normalises corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation. *Gut*, 56(11), 1522–1528.
<https://doi.org/10.1136/gut.2006.117176>
- Gill, S. R., Pop, M., DeBoy, R. T., Eckburg, P. B., Turnbaugh, P. J., Samuel, B. S., Gordon, J. I., Relman, D. A., Fraser-Liggett, C. M., Nelson, K. E. (2006). Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. *Science*, 312(5778), 1355–1359.
<https://doi.org/10.1126/science.1124234>
- Gonçalves, A. T., Maita, M., Futami, K., Endo, M., Katagiri, T. (2011). Effects of a probiotic bacterial *Lactobacillus rhamnosus* dietary supplement on the crowding stress response

- of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science*, 77(4), 633–642.
<https://doi.org/10.1007/s12562-011-0367-2>
- Gottesmann, C. (2002). GABA mechanisms and sleep. *Neuroscience*, 111(2), 231–239.
[https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(02\)00034-9](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00034-9)
- Hadizadeh, M., Hamidi, G., salamim, M. (2019). Probiotic supplementation improves the cognitive function and the anxiety-like behaviors in the stressed rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(5), 506-514. [10.22038/ijbms.2019.33956.8078](https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.33956.8078)
- Hammer, T. J., Sanders, J. G., Fierer, N. (2019). Not all animals need a microbiome. *FEMS Microbiology Letters*, 366(10). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz117>
- Hassenrück, C., Reinwald, H., Kunzmann, A., Tiedemann, I., Gärdes, A. (2021). Effects of Thermal Stress on the Gut Microbiome of Juvenile Milkfish (*Chanos chanos*). *Microorganisms*, 9(1), 5. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010005>
- Henry, J. P. (1992). Biological basis of the stress response. *Integrative Physiological and Behavioral Science*, 27(1), 66–83. <https://doi.org/10.1007/bf02691093>
- Henry, L. P., Bruijning, M., Forsberg, S. K. G., Ayroles, J. F. (2021). The microbiome extends host evolutionary potential. *Nature Communications*, 12(1).
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-25315-x>
- Heijtz, R. D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Bjorkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M. L., Forssberg, H., Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7), 3047–3052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108>
- Huitzil, S., Sandoval-Motta, S., Frank, A., Aldana, M. (2018). Modeling the Role of the Microbiome in Evolution. *Frontiers in Physiology*, 9.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01836>
- Isaksson, C. (2020). Urban ecophysiology: beyond costs, stress and biomarkers. *Journal of Experimental Biology*, 223(22). <https://doi.org/10.1242/jeb.203794>
- Janis, C. (1976). The evolutionary strategy of Equidae and the origins of rumen and cecal digestion. *Evolution*, 30, 757–774.

- Jašarević, E., Howard, C. D., Morrison, K., Misic, A., Weinkopff, T., Scott, P., Hunter, C., Beiting, D., Bale, T. L. (2018). The maternal vaginal microbiome partially mediates the effects of prenatal stress on offspring gut and hypothalamus. *Nature Neuroscience*, 21(8), 1061–1071. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0182-5>
- Kelly, J. R., Allen, A. P., Temko, A., Hutch, W., Kennedy, P. J., Farid, N., Murphy, E., Boylan, G., Bienenstock, J., Cryan, J. F., Clarke, G., Dinan, T. G. (2017). Lost in translation? The potential psychobiotic *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) fails to modulate stress or cognitive performance in healthy male subjects. *Brain, Behavior, and Immunity*, 61, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.11.018>
- Kelly, J. R., Borre, Y., O’ Brien, C., Patterson, E., El Aidy, S., Deane, J., Kennedy, P. J., Beers, S., Scott, K., Moloney, G., Hoban, A. E., Scott, L., Fitzgerald, P., Ross, P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J. F., Dinan, T. G. (2016). Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 82, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.07.019>
- Koizumi, R., Kiyokawa, Y., Mikami, K., Ishii, A., Tanaka, K. D., Tanikawa, T., Takeuchi, Y. (2018). Structural differences in the brain between wild and laboratory rats (*Rattus norvegicus*): Potential contribution to wariness. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(7), 1054–1060. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0052>
- Kolodny, O., Schulenburg, H. (2020). Microbiome-mediated plasticity directs host evolution along several distinct time scales. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1808), p. 20190589. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0589>
- Kralj-Fišer, S., Weiß, B. M., Kotschal, K. (2009). Behavioural and physiological correlates of personality in greylag geese (*Anser anser*). *Journal of Ethology*, 28(2), 363–370. <https://doi.org/10.1007/s10164-009-0197-1>
- Lazarus R. S., Folkman S. (1984). *Stress, Appraisal and Coping*. New York: Springer.
- Lederberg, J., McCray, A. T. (2001). ‘Ome sweet ‘omics—a genealogical treasury of words. *The Scientist*, 15(7), 8.

- Lee, V. E., Thornton, A. (2021). Animal Cognition in an Urbanised World. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.63394>
- Lenze, E. J., Mantella, R. C., Shi, P., Goate, A. M., Nowotny, P., Butters, M. A., Andreescu, C., Thompson, P. A., Rollman, B. L. (2011). Elevated Cortisol in Older Adults With Generalized Anxiety Disorder Is Reduced by Treatment: A Placebo-Controlled Evaluation of Escitalopram. *The American Journal of Geriatric Psychiatry*, 19(5), 482–490. <https://doi.org/10.1097/jgp.0b013e3181ec806c>
- Lesch, K.-P., Bengel, D., Heils, A., Sabol, S. Z., Greenberg, B. D., Petri, S., Benjamin, J., Müller, C. R., Hamer, D. H., Murphy, D. L. (1996). Association of Anxiety-Related Traits with a Polymorphism in the Serotonin Transporter Gene Regulatory Region. *Science*, 274(5292), 1527–1531. <https://doi.org/10.1126/science.274.5292.1527>
- Levin, D., Raab, N., Pinto, Y., Rothschild, D., Zanir, G., Godneva, A., Mellul, N., Futorian, D., Gal, D., Leviatan, S., Zeevi, D., Bachelet, I., & Segal, E. (2021). Diversity and functional landscapes in the microbiota of animals in the wild. *Science*, 372(6539). <https://doi.org/10.1126/science.abb5352>
- Lew, L.-C., Hor, Y.-Y., Yusoff, N. A. A., Choi, S.-B., Yusoff, M. S. B., Roslan, N. S., Ahmad, A., Mohammad, J. A. M., Abdullah, M. F. I. L., Zakaria, N., Wahid, N., Sun, Z., Kwok, L.-Y., Zhang, H., Liang, M.-T. (2019). Probiotic *Lactobacillus plantarum* P8 alleviated stress and anxiety while enhancing memory and cognition in stressed adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Clinical Nutrition*, 38(5), 2053–2064. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.09.010>
- Li, H., Wang, J., Wu, L., Luo, J., Liang, X., Xiao, B., Zhu, Y. (2018). The impacts of delivery mode on infant's oral microflora. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30397-7>
- Liu, Y., Cheng, J., Xia, Y., Li, X., Liu, Y., Liu, P. (2022). Response mechanism of gut microbiome and metabolism of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) to temperature stress. *Science of The Total Environment*, 813. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151786>

- Lukić, I., Getselter, D., Koren, O., Elliott, E. (2019). Role of Tryptophan in Microbiota-Induced Depressive-Like Behavior: Evidence From Tryptophan Depletion Study. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00123>
- MacLeod, K. J., Kohl, K. D., Trevelline, B. K., Langkilde, T. (2021). Context-dependent effects of glucocorticoids on the lizard gut microbiome. *Molecular Ecology*, 31(1), 185–196. <https://doi.org/10.1111/mec.16229>
- Macfarlane, G. T., Macfarlane, S. (2012). Bacteria, Colonic Fermentation, and Gastrointestinal Health. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 95(1), 50–60. https://doi.org/10.5740/jaoacint.sge_macfarlane
- Mantella, R. C., Butters, M. A., Amico, J. A., Mazumdar, S., Rollman, B. L., Begley, A. E., Reynolds, C. F., Lenze, E. J. (2008). Salivary cortisol is associated with diagnosis and severity of late-life generalized anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 33(6), 773–781. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.03.002>
- Martens, H. Barg, M. Warren, D. Jah, J.-H. (2002). Microbial production of vitamin B 12. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(3), 275–285. <https://doi.org/10.1007/s00253-001-0902-7>
- Martinowich, K., Lu, B. (2008). Interaction between BDNF and Serotonin: Role in Mood Disorders. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 73–83. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301571>
- Ma, T., Jin, H., Kwok, L.-Y., Sun, Z., Liang, M.-T., Zhang, H. (2021). Probiotic consumption relieved human stress and anxiety symptoms possibly via modulating the neuroactive potential of the gut microbiota. *Neurobiology of Stress*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100294>
- McCarter, T. (2008). Depression overview. *American Health & Drug Benefits*, 1(3), 44-51.
- McLean, P. G., Borman, R. A., Lee, K. (2007). 5-HT in the enteric nervous system: gut function and neuropharmacology. *Trends in Neurosciences*, 30(1), 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.11.002>

- McNeil, B. I., Matear, R. J. (2006). Projected climate change impact on oceanic acidification. *Carbon Balance and Management*, 1(1). <https://doi.org/10.1186/1750-0680-1-2>
- Mindus, C., van Staaveren, N., Bharwani, A., Fuchs, D., Gostner, J. M., Kjaer, J. B., Kunze, W., Mian, M. F., Shoveller, A. K., Forsythe, P., Harlander-Matauschek, A. (2021). Ingestion of *Lactobacillus rhamnosus* modulates chronic stress-induced feather pecking in chickens. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96615-x>
- Molendijk, M. L., de Kloet, E. R. (2015). Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression. *Psychoneuroendocrinology*, 62, 389–391. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.028>
- Morais, L. H., Schreiber, H. L., IV, Mazmanian, S. K. (2021). The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders. *Nature Reviews Microbiology*, 19(4), 241–255. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00460-0>
- Moustafa, M. A. M., Chel, H. M., Thu, M. J., Bawm, S., Htun, L. L., Win, M. M., Oo, Z. M., Ohsawa, N., Lahdenperä, M., Mohamed, W. M. A., Ito, K., Nonaka, N., Nakao, R., Katakura, K. (2021). Anthropogenic interferences lead to gut microbiome dysbiosis in Asian elephants and may alter adaptation processes to surrounding environments. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80537-1>
- Munck, A., Guyre, P. M., Holbrook, N. J. (1984). Physiological Functions of Glucocorticoids in Stress and Their Relation to Pharmacological Actions. *Endocrine Reviews*, 5(1), 25–44. <https://doi.org/10.1210/edrv-5-1-25>
- Nemoto, N., Kawaoi, A., Shikata, T. (1982). Immunohistochemical demonstration of serotonin (5HT)-containing cells in the human and rat intestines. *Biomedical Research*, 3(2), 181-187.
- Nesse, R. (2006). The Smoke Detector Principle: Natural Selection and the Regulation of Defensive Responses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 935, 75-85. [10.1111/j.1749-6632.2001.tb03472.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03472.x)
- Nishida, K., Sawada, D., Kuwano, Y., Tanaka, H., Sugawara, T., Aoki, Y., Fujiwara, S., Rokutan, K. (2017). Daily administration of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri*

CP2305 ameliorates chronic stress-associated symptoms in Japanese medical students. *Journal of Functional Foods*, 36, 112–121.

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.031>

O'Mahony, S. M., Marchesi, J. R., Scully, P., Codling, C., Ceolho, A.-M., Quigley, E. M. M., Cryan, J. F., 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.

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.026>

Oliphant, K., Allen-Vercoe, E. (2019). Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health.

Microbiome, 7, 91. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0704-8>

Pompei, A., Cordisco, L., Amaretti, A., Zanoni, S., Matteuzzi, D., Rossi, M. (2007). Folate Production by Bifidobacteria as a Potential Probiotic Property. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(1), 179–185.

<https://doi.org/10.1128/aem.01763-06>

Pulzova, L., Bhide, M. R., Andrej, K. (2009). Pathogen translocation across the blood-brain barrier. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 57(3), 203–213.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2009.00594.x>

Ramirez, J., Guarner, F., Bustos Fernandez, L., Maruy, A., Sdepanian, V. L., Cohen, H. (2020). Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.572912>

Raposa, E. B., Laws, H. B., Ansell, E. B. (2016). Prosocial Behavior Mitigates the Negative Effects of Stress in Everyday Life. *Clinical Psychological Science*, 4(4), 691–698.

<https://doi.org/10.1177/2167702615611073>

Rollo, A., Sulpizio, R., Nardi, M., Silvi, S., Orpianesi, C., Caggiano, M., Cresci, A., Carnevali, O. (2006). Live microbial feed supplement in aquaculture for improvement of stress tolerance. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32(2), 167–177.

<https://doi.org/10.1007/s10695-006-0009-2>

Romijn, A. R., Rucklidge, J. J., Kuijter, R. G., Frampton, C. (2017). A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of *Lactobacillus helveticus* and *Bifidobacterium*

- longum for the symptoms of depression. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 51(8), 810–821. <https://doi.org/10.1177/0004867416686694>
- Roughgarden, J., Gilbert, S. F., Rosenberg, E., Zilber-Rosenberg, I., Lloyd, E. A. (2018). Holobionts as Units of Selection and a Model of Their Population Dynamics and Evolution. *Biological Theory*, 13(1), 44–65. <https://doi.org/10.1007/s13752-017-0287-1>
- Sapolsky, R. M. (2021). Glucocorticoids, the evolution of the stress-response, and the primate predicament. *Neurobiology of Stress*, 14. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100320>
- Sapolsky, R. M. (2004). *Why Zebras Don't Get Ulcers*. Holt Paperbacks.
- Selye H. (1976). *Stress in Health and Disease*. Stoneham, MA: Butterworth.
- Sender, R., Fuchs, S., Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biology*, 14(8), e1002533. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002533>
- Shapira, M. (2016). Gut Microbiotas and Host Evolution: Scaling Up Symbiosis. *Trends in Ecology & Evolution*, 31(7), 539–549. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.03.006>
- Sharp, T., Barnes, N. M. (2020). Central 5-HT receptors and their function; present and future. *Neuropharmacology*, 177, 108155. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108155>
- Sheng, J. A., Bales, N. J., Myers, S. A., Bautista, A. I., Roueifar, M., Hale, T. M., Handa, R. J. (2021). The Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis: Development, Programming Actions of Hormones, and Maternal-Fetal Interactions. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.601939>
- Silva, Y. P., Bernardi, A., Frozza, R. L. (2020). The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00025>
- Steensberg, A., Fischer, C. P., Keller, C., Møller, K., Pedersen, B. K. (2003). IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *American Journal of Physiology-*

Endocrinology and Metabolism, 285(2), E433–E437.

<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00074.200>

Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(3), 231–249. <https://doi.org/10.31887/dcns.2002.4.3/tsteimer>

Stephens, A., Serwinski, B. (2016). Cortisol Awakening Response. *Stress: Concepts, Cognition, Emotion, and Behavior*, 277–283. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800951-2.00034-0>

Storelli, G., Defaye, A., Erkosar, B., Hols, P., Royet, J., Leulier, F. (2011). Lactobacillus plantarum Promotes Drosophila Systemic Growth by Modulating Hormonal Signals through TOR-Dependent Nutrient Sensing. *Cell*, 14(3), 403–414. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.07.012>

Stothart, M. R., Bobbie, C. B., Schulte-Hostedde, A. I., Boonstra, R., Palme, R., Mykytczuk, N. C. S., Newman, A. E. M. (2016). Stress and the microbiome: linking glucocorticoids to bacterial community dynamics in wild red squirrels. *Biology Letters*, 12(1), p. 20150875. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2015.0875>

Stothart, M. R., Palme, R., Newman, A. E. M. (2019). It's what's on the inside that counts: stress physiology and the bacterial microbiome of a wild urban mammal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1913), p. 20192111. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2111>

Stöwe, M., Rosivall, B., Drent, P. J., Möstl, E. (2010). Selection for fast and slow exploration affects baseline and stress-induced corticosterone excretion in Great tit nestlings, *Parus major*. *Hormones and Behavior*, 58(5), 864–871. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.08.011>

Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X.-N., Kubo, C., Koga, Y. (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of Physiology*, 558(1), 263–275. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>

Zhang, Z., Li, N., Chen, R., Lee, T., Gao, Y., Yuan, Z., Nie, Y., Sun, T. (2021). Prenatal stress leads to deficits in brain development, mood related behaviors and gut

- microbiota in offspring. *Neurobiology of Stress*, 15, 100333.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100333>
- Zilber-Rosenberg, I., Rosenberg, E. (2008). Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(5), 723–735. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00123.x>
- Taborsky, B., English, S., Fawcett, T. W., Kuijper, B., Leimar, O., McNamara, J. M., Ruuskanen, S., Sandi, C. (2021). Towards an Evolutionary Theory of Stress Responses. *Trends in Ecology & Evolution*, 36(1), 39–48.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2020.09.003>
- Tafet, G. E., Bernardini, R. (2003). Psychoneuroendocrinological links between chronic stress and depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27(6), 893–903. [https://doi.org/10.1016/s0278-5846\(03\)00162-3](https://doi.org/10.1016/s0278-5846(03)00162-3)
- Thursby, E., Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *The Biochemical journal*, 474(11), 1823–1836. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>
- van de Wouw, M., Boehme, M., Lyte, J. M., Wiley, N., Strain, C., O’Sullivan, O., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., Cryan, J. F. (2018). Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations. *The Journal of Physiology*, 596(20), 4923–4944. <https://doi.org/10.1113/jp276431>
- Wall, R., Cryan, J. F., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Dinan, T. G., Stanton, C. (2014). Bacterial Neuroactive Compounds Produced by Psychobiotics. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 817, 221–239. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0897-4_10
- Wang, S., Harvey, L., Martin, R., van der Beek, E. M., Knol, J., Cryan, J. F., Renes, I. B. (2018). Targeting the gut microbiota to influence brain development and function in early life. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 95, 191–201.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.09.002>
- Wehrwein, E. A., Orer, H. S., Barman, S. M. (2016). Overview of the Anatomy, Physiology, and Pharmacology of the Autonomic Nervous System. *Comprehensive Physiology*, 6(3), 1239–1278. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150037>

- Wiley, N. C., Dinan, T. G., Ross, R. P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J. F. (2017). The microbiota-gut-brain axis as a key regulator of neural function and the stress response: Implications for human and animal health. *Journal of Animal Science*, 95(7), 3225–3246. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1256>
- Wrase, J., Reimold, M., Puls, I., Kienast, T., Heinz, A. (2006). Serotonergic dysfunction: Brain imaging and behavioral correlates. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 6(1), 53–61. <https://doi.org/10.3758/cabn.6.1.53>
- Wu, C., Sun, D. (2014). GABA receptors in brain development, function, and injury. *Metabolic Brain Disease*, 30(2), 367–379. <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9560-1>
- Yan, D., Hu, D., Li, K., Li, B., Zeng, X., Chen, J., Li, Y., Wronski, T. (2021). Effects of Chronic Stress on the Fecal Microbiome of Malayan Pangolins (*Manis javanica*) Rescued from the Illegal Wildlife Trade. *Current Microbiology*, 78(3), 1017–1025. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02357-4>
- Yano, J. M., Yu, K., Donaldson, G. P., Shastri, G. G., Ann, P., Ma, L., Nagler, C. R., Ismagilov, R. F., Mazmanian, S. K., Hsiao, E. Y. (2015). Indigenous Bacteria from the Gut Microbiota Regulate Host Serotonin Biosynthesis. *Cell*, 161(2), 264–276. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.047>
- Yatsunenkov, T., Rey, F. E., Manary, M. J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M. G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R. N., Anokhin, A. P., Heath, A. C., Warner, B., Reeder, J., Kuczynski, J., Caporaso, J. G., Lozupone, C. A., Lauber, C., Clemente, J. C., Knights, D., ... Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486(7402), 222–227. <https://doi.org/10.1038/nature11053>
- Yeager, M. P., Pioli, P. A., Guyre, P. M. (2010). Cortisol Exerts bi-phasic Regulation of Inflammation in Humans. *Dose-Response*, 9(3), 332–347. <https://doi.org/10.2203/dose-response.10-013.yeager>

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Marten Kase, annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose “Mikrobioomi mõju loomade käitumisele stressisituatsioonis”, mille juhendaja on Mari-Ann Lind reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Marten Kase

23.05.2022