

Praca pogładowa**Review**

LESZEK RUDZKI, AGATA SZULC

Wpływ jelitowej flory bakteryjnej na ośrodkowy układ nerwowy i jej potencjalne znaczenie w leczeniu zaburzeń psychicznych*Influence of intestinal microbiota on the central nervous system and its potential in the treatment of psychiatric disorders*

Klinika Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

STRESZCZENIE

Częste współwystępowanie zaburzeń w obrębie jelit (takich jak zespół jelita drażliwego) czy chorób zapalnych jelit (m.in. wrzodziejącego zapalenia jelita grubego czy choroby Leśniowskiego-Crohna) oraz zaburzeń psychicznych (głównie depresyjnych i lękowych) wskazuje na istnienie istotnych zależności i interakcji w obrębie tzw. osi jelitowo-mózgowej, lub inaczej: osi mózg-jelita-mikrobiota – dwukierunkowego szlaku komunikacyjnego łączącego jelita i jelitową florę bakteryjną z OUN (ośrodkowym układem nerwowym), obejmującego mechanizmy neuronalne, endokrynne i immunologiczne. Jelitowa mikrobiota stanowi jeden z kluczowych elementów osi jelitowo-mózgowej. Liczne badania wskazują na wpływ mikrobioty na OUN, nastrój i zachowanie oraz na jej potencjał oddziaływania przeciwłękowego i przeciwdepresyjnego. Mikrobiota oddziałuje na OUN m.in. poprzez modulację stężenia cytokin pro- i przeciwzapalnych, wpływ na zawartość tryptofanu – prekursora serotoniny i jego metabolitów w szlaku kinureninowym, produkcję licznych neuromediatorów i wpływ na ekspresję ich receptorów w mózgu, ponadto poprzez interakcję z jelitowym i autonomicznym układem nerwowym, zwłaszcza nerwem błędnym oraz poprzez regulację odpowiedzi osi HPA (podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej) pod wpływem stresu. Mikrobiota odgrywa także kluczową rolę w profilaktyce zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej pod wpływem stresu psychologicznego i cytokin prozapalnych. Istnieje ogromna liczba dowodów na kluczową rolę układu immunologicznego i cytokin prozapalnych w zapalnej patogenezie depresji, a także coraz więcej dowodów na rolę zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej (*leaky gut syndrome*) w patogenezie depresji. Celem autorów niniejszej pracy jest przedstawienie szeregu zależności pomiędzy jelitową florą bakteryjną a funkcjonowaniem OUN oraz potencjału suplementacji probiotykami w terapii zaburzeń psychicznych, głównie depresyjnych i lękowych, oraz w profilaktyce efektów stresu psychologicznego poprzez zmniejszanie przepuszczalności bariery jelitowej.

SUMMARY

Comorbidity of intestinal diseases such as irritable bowel syndrome (IBS) or inflammatory bowel diseases, e.g. colitis ulcerosa or Crohn's disease, along with psychiatric diseases, primarily depression and anxiety disorders, indicate the existence of important relations and interactions within the gut-brain axis or, more precisely, the brain-gut-intestinal microbiota axis, a bidirectional communication tract connecting intestines and intestinal microbiota with the central nervous system (CNS), which includes neuronal, endocrinological and immunological mechanisms. Intestinal microbiota are one of the key elements of the gut-brain axis. A growing amount of evidence confirms the influence of intestinal microbiota on brain function, mood and behaviour and also their antidepressant and anxiolytic potential. Microbiota have an influence on the CNS through the modulation of levels of cytokines, and the tryptophan metabolism and its kynurenic pathway metabolites, through the production of neurotransmitters and their influence on the expression of their brain receptors, and through their interactions with the enteric and autonomic nervous system, mostly with the vagus nerve. Microbiota have an influence on the stress response of hypothalamus-pituitary-adrenal axis (HPA) and are a key factor in the prevention of increased intestinal permeability in response to psychological stress and pro-inflammatory cytokines. A powerful body of evidence indicates a key role of the inflammatory response in the pathogenesis of depression. There is also an increasingly strong indication of the significance of increased intestinal permeability (*leaky gut syndrome*) in the pathogenesis

of depression. The aim of this review is to present a number of interactions between intestinal microbiota and the CNS and to demonstrate their potential involvement in the treatment of psychiatric diseases, mostly depression and anxiety disorders, and also to discuss the role of microbiota in the prophylaxis of psychological stress, through the retightening of the intestinal barrier and reduction of intestinal permeability.

Słowa kluczowe: depresja, mikrobiota, probiotyki, oś jelitowo-mózgowa, zespół jelita przesiąkliwego

Key words: depression, microbiota, probiotics, gut-brain axis, leaky gut syndrome

WSTĘP

W ostatnich latach jesteśmy świadkami wyraźnego wzrostu zainteresowania tematyką zależności pomiędzy funkcją jelit, jelitowej flory bakteryjnej, zaburzeniem ciągłości bariery jelitowej a funkcją OUN. Zależności te zachodzą w obrębie tzw. osi jelitowo-mózgowej, inaczej: osi mózg-jelita-mikrobiota. Często współwystępowanie zaburzeń w obrębie jelit (takich jak zespół jelita drażliwego) czy zapalnych chorób jelit (m.in. wrzodziejącego zapalenia jelita grubego czy choroby Leśniowskiego-Crohna) (Qin i wsp. 2010) oraz zaburzeń psychicznych, głównie depresyjnych i lękowych, wskazuje na istnienie istotnych zależności i interakcji w obrębie osi jelitowo-mózgowej. Zależności tego rodzaju zachodzą także w wypadku schizofrenii i autyzmu. Już na początku XX wieku pojawiły się hipotezy, iż schizofrenia ma swoje źródło w przewodzie pokarmowym. Badania Buscaino, przeprowadzone *post mortem* u 82 pacjentów chorujących na schizofrenię, ujawniły liczne zmiany zapalne w przewodzie pokarmowym chorych, m.in. zapalenie żołądka u 50%, zapalenie jelita cienkiego u 88% oraz zapalenie jelita grubego u 92% chorych (Hemmings i Hemmings 1978). Zmiany te były częściowo podobne do zmian histologicznych charakterystycznych dla celiakii. Także Asperger zauważył związek pomiędzy celiakią a zaburzeniami psychotycznymi (Asperger 1961). Z kolei badania wpływu diety bezglutenowej na osoby chorujące na schizofrenię wykazały jej terapeutyczne działanie u części pacjentów (Singh i Kay 1976). Profesor Henri Baruk, francuski autorytet w dziedzinie psychiatrii, w oparciu o swoje ponad 50-letnie, liczne badania nad schizofrenią i katatonią, które prowadził na Sorbonie, podkreślał znaczenie przewodu pokarmowego, toksyn jelitowych i czynników infekcyjnych w kontekście katatonii i schizofrenii (Baruk 1953; Baruk i Camus 1958; Baruk i Fabiani 1962; Hemmings i Hemmings 1978). Rola przewodu pokarmowego wydaje się kluczowa także w patogenezie autyzmu, co m.in. potwierdzili Wakefield i wsp. (1998, 2000), wykazując liczne zmiany o charakterze zapalnym w przewodzie pokarmowym dzieci chorujących na autyzm. Ponadto zaburzenia w obrębie

osi jelitowo-mózgowej są związane z przewlekłym zespołem bólowym brzucha i zaburzeniami łaknienia (Mayer 2011). W kontekście powyższych badań modulowanie osi jelitowo-mózgowej staje się punktem wyjścia do rozwoju nowych strategii leczniczych w wielu schorzeniach, począwszy od zaburzeń nastroju i lękowych, aż po schorzenia przewodu pokarmowego. Możliwe także, że odpowiednie interwencje dietetyczne, m.in. ograniczenie produktów zawierających gluten, mogą okazać się pomocne w leczeniu chorób psychicznych.

Jelitowa mikrobiota, czyli jelitowa flora bakteryjna, stanowi jeden z kluczowych elementów osi jelitowo-mózgowej i w związku z tym zasługuje na szczególną uwagę. W ostatnich latach wiele badań potwierdza jej wpływ na nastrój i zachowanie, głównie poprzez regulację odpowiedzi stresowej i zmniejszanie objawów depresyjnych i lękowych (Rhee i wsp. 2009). Ma ona bezpośredni wpływ m.in. na modulację stężeń cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych, wpływa na metabolizm tryptofanu w szlaku kinureninowym, modulując tym samym zawartość serotoniny, wpływa na funkcjonowanie osi podwzgórzowo-przysadkowo-nadnerczowej, produkuje liczne neuromediatory oraz poprawia „szczelność” bariery jelitowej – największej, osiągającej 400–600 m², powierzchni, jaką nasz organizm kontaktuje się ze światem zewnętrznym.

Ogromna ilość dowodów na aktywację stanu zapalnego w depresji, manifestującego się m.in. zwiększeniem stężenia cytokin prozapalnych: IL-1 β , IL-5, IL-6 i czynnika martwicy nowotworu α , (*tumor necrosis factor α* – TNF- α), zwiększeniem stężenia osoczowych pozytywnych białek ostrej fazy, np. haptoglobiny, i zmniejszeniem stężenia negatywnych białek ostrej fazy, takich jak albuminy czy transferyny (Maes 1995, Song i wsp. 1994, Myint i wsp. 2005), oraz częste współwystępowanie depresji w przebiegu wielu chorób o podłożu zapalnym, takich jak choroby reumatyczne, choroby zapalne jelit, POCHP, infekcja HIV, stwardnienie rozsiane, choroba wieńcowa, choroba Alzheimera i inne, wskazują na podłoże psychoneuroimmunologiczne wielu zaburzeń psychicznych. Wpływ stresu psychologicznego na aktywację parametrów stanu zapalnego, m.in. wzrost stężenia

cytokin prozapalnych, oraz na zwiększanie przepuszczalności bariery jelitowej (Kiliaan i wsp. 1998, Demande i wsp. 2006) i rozwój tzw. jelita przesiąkliwego (ang. *leaky gut syndrome*) oraz wpływ stresu psychologicznego na skład i funkcję mikrobioty (Rhee i wsp. 2009, Freestone i wsp. 2002, Kiliaan i wsp. 1998, Bailey i wsp. 2004) także rzuca dodatkowe światło na kwestię znaczenia „licznych mieszkańców” jelit dla funkcjonowania OUN i osi mózg-jelita-mikrobiota.

„Bułgarski Bacillus”

Probiotyki – z greckiego *pro bios*, czyli „dla życia” – według definicji WHO (Światowej Organizacji Zdrowia) i FAO (Organizacji Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa) są to „żywe mikroorganizmy, które, kiedy podane w odpowiednich ilościach, przekazują zdrowotne korzyści gospodarzowi”. Pierwsze obserwacje terapeutycznego wpływu bakterii na zdrowie zawdzięczamy „dziadkowi” współczesnych probiotyków – Ilii Miecznikowowi, który jako pierwszy zwrócił uwagę na związek pomiędzy bardzo dobrym ogólnym stanem zdrowia i długowiecznością bułgarskiej ludności wiejskiej a systematycznie spożywanym kwaśnym mlekiem zawierającym bakterie kwasu mlekowego, które określał mianem „Bułgarskiego Bacillus”. Pierwsze doniesienia o próbach włączania probiotyków do terapii zaburzeń psychicznych pochodzą z początku XX wieku. Mianowicie w 1910 roku dr George Porter Phillips opisał korzystny wpływ bakterii kwasu mlekowego u chorych na depresję (Phillips 1910). Z kolei w 1923 roku na wniosek grupy badaczy rekomendowano bakterię *Acidofilus* jako „środek służący fizycznej poprawie w leczeniu psychoz” (Julianelle i wsp. 1923).

„Zapomniany narząd” – niezwykle skład, niezwykle funkcje

Ze względu na ogromną ilość i niezwykłą złożoność funkcji mikrobioty w przewodzie pokarmowym, której masa wynosi średnio ok. 1–2 kg u dorosłego człowieka, określa się ją mianem „zapomnianego narządu”. Jelita są zamieszkane przez ok. 10^{13} – 10^{14} mikroorganizmów, co stanowi 10 razy większą liczbę niż liczba komórek w ludzkim organizmie, i mikroorganizmy te zawierają 150 razy więcej genów niż ludzki genom (Qin i wsp. 2010). Jest to środowisko zdominowane głównie przez bakterie beztlenowe i przez dwa typy bakterii – *Bacterioides* i *Firmicutes* (Xu i wsp. 2007).

Mikrobiota pełni szereg funkcji w obrębie przewodu pokarmowego: funkcje immunomodulujące (O’Toole i Cooney 2008), wpływ na zmiany stężeń cytokin, m.in. poprzez interakcję z GALT – (ang. *gut*

associated lymphoid tissue), czyli z tkanką limfatyczną przewodu pokarmowego, która stanowi największy narząd limfatyczny w ludzkim organizmie, w którym powstaje 70–80% komórek układu immunologicznego. Bakterie jelitowe pełnią także funkcje ochronne – poprzez współzawodnictwo receptorowe na powierzchni nabłonka jelitowego z bakteriami patogennymi oraz współzawodnictwo z nimi o składniki odżywcze. Produkują liczne czynniki przeciwmikrobowe, np. bakteriocyny (Cryan i wsp. 2012), mają rolę strukturalną – wzmacniają szczelność bariery jelitowej, m.in. poprzez wpływ na ekspresję niektórych białek strukturalnych wchodzących w skład tzw. ścisłych połączeń (tzw. *tight junctions*) pomiędzy enterocytami, indukują syntezę ochronnej immunoglobuliny A. Ponadto pełnią wiele funkcji metabolicznych, m.in. wpływają na proliferację i różnicowanie nabłonka jelitowego, zaopatrują warstwę nabłonka w źródło energii, m.in. butyrat, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (ang. *SCFA – short chain fatty acids*), biorą udział w przekształcaniu steroidów oraz kwasów tłuszczowych, w fermentacji błonnika pokarmowego, absorpcji jonów, syntetyzują liczne witaminy z grupy B, witaminę K oraz hamują wzrost bakterii syntetyzujących karcynogeny, a nawet same zdolne są metabolizować niektóre karcynogeny pokarmowe (Cryan i wsp. 2012).

Oś mózg-jelita-mikrobiota

Od dawna wiadomo, że mózg reguluje funkcje jelit. Ostatnio natomiast zwrócono uwagę na odwrotny kierunek zależności – procesy zachodzące w obrębie jelit oraz jelitowa mikrobiota może wywierać wpływ na funkcję OUN. Jelita, wraz z jelitową florą bakteryjną, i mózg są ściśle połączone poprzez oś jelitowo-mózgową (dokładniej: oś mózg-jelita-mikrobiota), która jest dwukierunkowym szlakiem komunikacyjnym obejmującym mechanizmy neuronalne, endokrynne i immunologiczne.

Do mechanizmów neuronalnych zaliczyć możemy ENS – jelitowy układ nerwowy (ang. *enteric nervous system*) z wieloma neurotransmiterami i neuromodulatorami, włączając serotoninę, acetylocholinę i CRF – kortykoliberynę (ang. *corticotropin releasing factor*). Na szczególną uwagę zasługuje CRF – ze względu na udział w zwiększaniu przepuszczalności bariery jelitowej pod wpływem stresu (Gareau i wsp. 2007, Collins i wsp. 2012).

W skład kolejnego elementu osi jelitowo-mózgowej, czyli autonomicznego układu nerwowego (AUN), wchodzi odgałęzienia współczulne i przywspółczulne. Na szczególną uwagę w tym kontekście zasługuje nerw błędny (n.X), stanowiący przywspół-

czulne odgałęzienie AUN. Zapewnia on istotną linię komunikacyjną pomiędzy jelitową mikrobiotą i OUN. Liczne badania wykazały, iż cytokiny prozapalne mogą wywierać bezpośredni wpływ na OUN poprzez aktywację aferentnych włókien nerwowych, które przekazują bodźce do odpowiednich rejonów mózgu, np. jądra pasma samotnego (Irwin i Miller 2007). Unerwienie eferentne natomiast może pośredniczyć w reakcji przeciwzapalnej, oddziałując na receptory alfa7-nikotynowe, m.in. w licznych komórkach układu immunologicznego, zmniejszając wydzielanie cytokin prozapalnych (Pavlov i Tracey 2004). Nemeroff i wsp. (2006) wykazali, iż stymulacja nerwu błędnego ma działanie przeciwdepresyjne i powoduje normalizację parametrów HPA u chorych leczonych na depresję nawracającą (O'Keane i wsp. 2005).

Do endokrynnych czynników regulujących oś jelitowo-mózgową należy m.in. kortyzol, którego wydzielanie pod wpływem stresu jest regulowane poprzez oś HPA i który może wpływać na komórki immunologiczne, modulując wydzielanie cytokin, oraz wpływać na skład i funkcje mikrobioty. Ponadto bakterie jelitowe mają zdolność produkcji licznych neurohormonów, takich jak serotonina, melatonina, GABA (kwas γ -aminobutyrylowy), katecholaminy, histamina, acetylocholina, ponadto produkują krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (SCFA). Wszystkie te substancje najprawdopodobniej biorą udział w komunikacji w obrębie jelitowej flory bakteryjnej, mogą także mieć działanie obwodowe oraz układowe i wpływać na funkcje mózgu i zachowanie (Iyer i wsp. 2004). Jako przykład można wskazać zmiany w zawartości SCFA w kale u dzieci z autyzmem (Wang i wsp. 2012). W badaniach na zwierzętach kwas propionowy (krótkołańcuchowy kwas tłuszczowy, który produkowany jest przez bakterie jelitowe w większej ilości u dzieci autystycznych) podawany do OUN szczurów powodował wystąpienie zachowań autystycznych i agresję (Thomas i wsp. 2012). Ponadto opisywane są przejściowe sukcesy leczenia wankomycyną objawów agresji u osób z autyzmem.

Mikrobiota i probiotyki mogą wywierać także bezpośredni wpływ na układ immunologiczny (Forsythe i wsp. 2010, Duerkop i wsp. 2009). Liczne badania wykazały, że bakterie jelitowe mogą obniżać stężenia cytokin prozapalnych: TNF- α , IFN- γ , IL-6 i modulować stężenia cytokin przeciwzapalnych, np. IL-10 (Desbonnet i wsp. 2009).

Cytokiny prozapalne IL-1, IL-6, TNF- α , INF- γ pełnią kluczowe funkcje w aktywacji osi HPA. IL-1b, IL-6, TNF- α zwiększają przepuszczalność bariery jelitowej z następczą, dalszą aktywacją stanu zapalnego, ponadto TNF- α , IFN- α , INF- γ aktywują enzym szlaku

kinureninowego IDO – 2,3-dioksygenazę indoleaminy, który powoduje przesunięcie tryptofanu ze szlaku produkcji serotoniny do metabolizmu w szlaku kinureninowym, zmniejszając jej stężenie i zwiększając stężenie neurotoksycznie i neuroekscytacyjnie działających na OUN metabolitów tryptofanu, m.in. kwasu chinolinowego i 3-hydroksy-kinureniny (Wichers i Maes 2004, Maes i wsp. 2011, Myint i wsp. 2007). Ponadto cytokiny mogą wywierać bezpośredni wpływ na OUN za pośrednictwem różnych mechanizmów, m.in. przechodząc przez rejony przepuszczalne dla niektórych cytokin w barierze krew-mózg, za pomocą specyficznych transporterów lub przez aktywację aferentnych włókien nerwowych, np. nerwu błędnego (Irwin i Miller 2007). Możliwe jest więc, iż działanie przeciwdepresyjne i przeciwlękowe bakterii jelitowych może zachodzić m.in. poprzez wpływ na wyżej wymienione elementy.

Wpływ stresu na przepuszczalność bariery jelitowej

Kluczową rolę w dwukierunkowej zależności pomiędzy OUN a funkcją jelit odgrywa wpływ stresu psychologicznego na wzrost przepuszczalności bariery jelitowej z następczą translokacją bakterii ze światła jelita (Demande i wsp. 2006) oraz aktywacja odpowiedzi zapalnej poprzez lipopolisacharydy bakteryjne (LPS) z podwyższeniem zawartości cytokin prozapalnych. Pojawia się także coraz więcej doniesień na temat potencjalnej roli zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej dla alergenów pokarmowych i rozwoju alergii pokarmowej typu III, zależnej od IgG (immunoglobuliny G), w kontekście zaburzeń depresyjnych (Rudzki i wsp. 2012). Na modelu zwierzęcym wykazano, że przewlekły stres psychologiczny powodował 30-krotny wzrost wychwytu bakterii *Escherichia coli* przez GALT, z następczą inicjacją prozapalnej odpowiedzi immunologicznej w obrębie jelita (Velin i wsp. 2004). Stres powodował zwiększenie wrażliwości jelitowej tkanki limfatycznej na alergeny pokarmowe (Yang i wsp. 2006) oraz inicjował zwiększenie przepuszczalności bariery jelitowej dla bakterii jelitowych i ich zwiększony wychwyty w krezkowych węzłach chłonnych, czemu zapobiegała podaż mieszanki probiotyku *Lactobacillus rhamnosus* i *L. helveticus* (Zareie i wsp. 2006). Rolę zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej w kontekście patogenyzy depresji jako pierwsi potwierdzili Maes i wsp. (2008), którzy wykazali u chorych z depresją znacznie podwyższone stężenie immunoglobulin IgM i IgA przeciwko lipopolisacharydom Gram-ujemnych enterobakterii, prawidłowo występujących w świetle jelit. W mecha-

nizmie zwiększonej, zaburzonej przepuszczalności bariery jelitowej, indukowanej stresem, kluczową rolę odgrywa zwiększenie wydzielania CRF przez miejscowo działające komórki immunologiczne, neurony współczulne i jelitowe komórki enterochromafinowe. (Gareau i wsp. 2007). Stanowi to jeden z kluczowych mechanizmów, za pomocą których stres psychologiczny może wpływać na zwiększenie translokacji bakterii ze światła jelita, prowadząc do aktywacji stanu zapalnego. Ponadto wykazano, iż pod wpływem stresu psychologicznego podwyższeniu ulegają stężenia niektórych cytokin prozapalnych, np. IFN-gamma, które niekorzystnie oddziałują na ciągłość bariery jelitowej (Kiliaan i wsp. 1998). Także pod wpływem stresu zachodzi zmniejszenie ekspresji mRNA ZO-2 i okludyn TJ, czyli białek wchodzących w skład *tight junctions* – ścisłych połączeń pomiędzy enterocytami, czego następstwem jest także pogorszenie funkcji bariery jelitowej (Kiliaan i wsp. 1998).

Wpływ mikrobioty jelitowej na OUN

Sudo i wsp. (2004) jako pierwsi wykazali wpływ jelitowej flory bakteryjnej na prawidłowy rozwój i funkcjonowanie osi HPA. Swoje badania oparli na mysich modelach: GF (*germ free*), czyli myszy wyhodowane w całkowicie sterylnych warunkach, pozbawione jakiegokolwiek jelitowej flory bakteryjnej, oraz myszy SPF (*specific pathogen free*), czyli myszy pozbawione określonych patogenów. Poddanie ich stresowi spowodowało nadmierne podwyższenie stężeń kortykotropiny (ACTH) i kortykosteronu u myszy GF, a u myszy SPF nie. Odpowiedź stresowa u myszy GF została następnie częściowo odwrócona poprzez kolonizację treścią fekalną pochodzącą od myszy SPF, a całkowicie odwrócona przez monoasocjację z bakterią *Bifidobacterium infantis*, bakterią dominującą w jelitach niemowląt i często używanym probiotykiem (Bailey i Coe 1999). Jednym z najbardziej zaskakujących odkryć był fakt, iż odwrócenie nadmiernej aktywacji osi HPA za pomocą *Bifidobacterium infantis* miało swoje konsekwencje w okresie dorosłości, ale jedynie i tych myszy, u których kolonizacja bakteriami nastąpiła przed 6 tygodniem życia. Kolonizacja w 14 tygodniu okazała się nieefektywna, co sugeruje istnienie pewnego „okienka podatności” na efekty interakcji pomiędzy bakterią i gospodarzem. W dalszym badaniu Sudo (2006) wykazał obniżone zawartości neurotropowego czynnika pochodzenia mózgowego (z ang. BDNF – *brain derived neurotropic factor*), noradrenaliny i 5-HT w korze i hipokampie u myszy GF w porównaniu do myszy SPF.

Desbonnet i wsp. (2009) badali potencjalne działanie przeciwdepresyjne bakterii *Bifidobacterium infantis* u szczurów, poddając je testowi wymuszonego pływania (ang. FST – *forced swim test*). Autorzy wykazali istotne obniżenie stężeń cytokin prozapalnych IFN-gamma, TNF-alfa i IL-6 oraz obniżenie stężenia IL-10 u grupy otrzymującej probiotyk w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto probiotyk wpłynął na podwyższenie zawartości tryptofanu i jego metabolitu – kwasu kinureninowego, wykazującego neuroprotektoryjne działanie poprzez swój antagonizm do receptorów NMDA. Kolejnym odkryciem w tym kluczowym badaniu było wykazanie, że w grupie, której podawano probiotyk, występowała obniżona zawartość 5-HIAA (kwasu 5-hydroksyindolooctowego) – produktu przemiany serotoniny – w korze czołowej i obniżona zawartość DOPAC (kwasu 3,4-dihydroksyfenylooctowego) – metabolitu dopaminy – w korowej części ciała migdałowatego.

W kolejnym badaniu, aby ocenić potencjalne działanie przeciwdepresyjne bakterii *Bifidobacterium infantis*, młode szczury poddawano stresowi, separując je od matki (Desbonnet i wsp. 2010). Probiotyk spowodował, w nieco mniejszym stopniu niż citalopram, wyraźną normalizację odpowiedzi immunologicznej, obniżając stężenie IL-6, oraz odwrócił deficyty behawioralne i przywrócił wyjściowe stężenie noradrenaliny w pniu mózgu.

Kwas γ -aminobutyrylowy (GABA), jako główny neurotransmitter hamujący w OUN, pełni istotne funkcje w procesach fizjologicznych. Zmiany w ośrodkowej ekspresji receptorów GABA są związane z patogenezą zaburzeń lękowych i depresji, które często współwystępują z funkcjonalnymi zaburzeniami jelit. Javier i wsp. (2011) wykazali na modelu zwierzęcym wpływ bakterii *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) na ekspresję receptorów GABA w OUN oraz że ta modulacja zachodzi za pomocą nerwu błędnego. Ponadto probiotyk spowodował obniżenie zawartości kortykosteronu i ograniczył zachowania związane z depresją i lękiem. Neurochemiczne i behawioralne wpływy probiotyku nie występowały u myszy poddanych wagotomii, wskazując na to, że nerw błędny stanowi kluczowy element komunikacji pomiędzy bakteriami jelitowymi i OUN.

Girard i wsp. (2009) wykazali, iż mieszanka probiotyków *Lactobacillus helveticus* i *Bifidobacterium longum* zapobiegała apoptozie układu limbicznego i zachowaniom depresyjnym u szczurów po zawale mięśnia sercowego. Co ciekawe, wcześniejsze badania wykazały, iż apoptoza ta może być blokowana także przez leki przeciwdepresyjne (Wann i wsp. 2009) lub leki przeciwzapalne (Kaloustian i wsp. 2007).

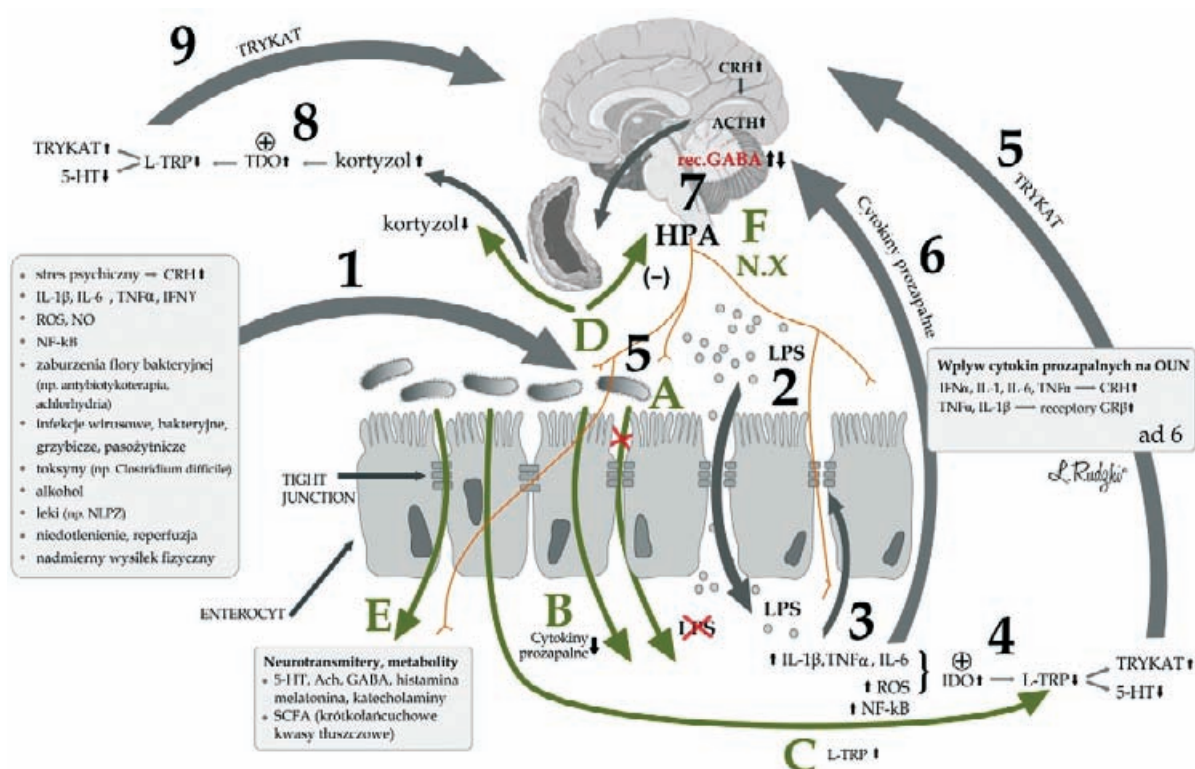
Badania na pacjentach także przynoszą optymistyczne wnioski. Messaoudi i wsp. (2011) wykazali, iż bakterie *L. helveticus* R0052 i *B. longum* R0175 w połączeniu wykazały aktywność anksjolityczną, istotnie obniżając zachowania związane z lękiem u szczurów i złagodziły poziom psychologicznego dystresu u ochotników, m.in. współczynników nasilenia somatyzacji, lęku, depresji i współczynnika agresji-wrogości. Obniżeniu uległa także zawartość kortyzolu.

W kolejnym badaniu (Rao i wsp. 2009) przeprowadzonym z udziałem pacjentów z zespołem przewlekłego

zmęczenia (ang. CSF – *chronic fatigue syndrome*) otrzymujących codziennie przez okres 2 miesięcy-*Lactobacillus Casei* Shitora (LcS) zaobserwowano istotny wzrost ilości bakterii *Lactobacillus* oraz *Bifidobacteria* w kale oraz istotny spadek objawów lęku w porównaniu do grupy otrzymującej placebo.

W innych badaniach (Cazzola i wsp. 2010, Wagar i wsp. 2009) wykazano, że *L. helveticus* R0052 obniżał stężenia IL-1b i IL-6 oraz nieistotnie statystycznie TNF-alfa, natomiast *Bifidobacterium longum* R0175 obniżał stężenia IL-8 i TNF-alfa.

Rycina 1. Potencjalna rola zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej (*leaky gut syndrome*) i aktywacji zapalnej odpowiedzi immunologicznej w patogenezie depresji oraz mechanizmy oddziaływań mikrobioty na OUN



Potencjalna rola zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej (*leaky gut syndrome*) i aktywacji zapalnej odpowiedzi immunologicznej w patogenezie depresji (częściowo zaadoptowano z: Rudzki i wsp. 2012)

1) Czynniki powodujące zwiększenie przepuszczalności bariery jelitowej oraz osłabienie *tight junctions* (TJ) – ścisłych połączeń; 2) Zwiększona translokacja bakterii znajdujących się w świetle jelita w następstwie osłabionej ciągłości bariery jelitowej oraz aktywacja układu immunologicznego poprzez lipopolisacharydy bakteryjne (LPS), aktywacja stanu zapalnego z podwyższeniem stężeń cytokin prozapalnych, nasileniem stresu oksydacyjnego, aktywacją NF-κB – czynnika transkrypcji jądrowej; 3) Dalsze osłabianie bariery jelitowej i uszkodzenie TJ pod wpływem cytokin prozapalnych, stresu oksydacyjnego i nitrozacyjnego (ROS, NO), aktywacji NFκB; 4) Aktywacja 2,3-dioksygenazy indoleaminy (IDO) przez cytokiny prozapalne i stres oksydacyjny z następczym obniżeniem zawartości tryptofanu i serotoniny (5-HT) oraz podwyższeniem stężeń katabolitów tryptofanu (TRYKAT); 5) Szkodliwy wpływ TRYKAT na OUN; 6) Wpływ cytokin prozapalnych na OUN poprzez m.in: podwyższenie zawartości CRH i aktywację osi HPA; rozwój oporności na glikokortykoidy poprzez zwiększenie ekspresji nieaktywnej formy receptora glikokortykoidów GRβ w stosunku do formy aktywnej GRα; 7) Aktywacja osi HPA i następcze podwyższenie zawartości kortyzolu; 8) Aktywacja 2,3 dioksygenazy tryptofanu (TDO) przez kortyzol z następczym obniżeniem stężeń tryptofanu i 5-HT oraz podwyższeniem stężeń katabolitów tryptofanu (TRYKAT); 9) Szkodliwy wpływ TRYKAT na OUN (częściowo zaadoptowano z Rudzki i wsp. 2012).

Mechanizmy oddziaływań mikrobioty na OUN

A) Zapobieganie zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej dla LPS bakteryjnych przez mikrobiotę i hamowanie aktywacji stanu zapalnego; B) Obniżenie stężeń cytokin prozapalnych; C) Podwyższenie zawartości tryptofanu, prekursora serotoniny i zapobieganie powstawania TRYKAT; D) Hamowanie aktywności osi HPA oraz obniżenie zawartości kortyzolu; E) Produkcja szeregu neurotransmiterów i neurometabolitów działających miejscowo i obwodowo; F) Wpływ mikrobioty na OUN za pomocą unerwienia aferentnego (np. nerw X) i następcze zmiany w ilości receptorów GABA w OUN.

Wpływ stresu na skład i funkcje mikrobioty

Zależności w obrębie osi jelitowo-mózgowej zachodzą dwukierunkowo. Oprócz wpływu mikrobioty na funkcję OUN, w wielu badaniach wykazano, iż stres psychologiczny wpływa na skład i funkcje mikrobioty. Stresory środowiskowe mają negatywny wpływ na mikroflorę, oraz mogą podwyższać ilość bakterii tlenowych i zmniejszać ilość *lactobacilli* u zwierząt laboratoryjnych (Suzuki i wsp. 1983, Timoveyev i wsp. 2002). U ludzi natomiast nagły stres emocjonalny powoduje długoterminową redukcję *lactobacilli* i *bifidobakterii* (Moore i wsp. 1978, Holdeman i wsp. 1976). Ponadto *bifidobakterie* wydają się bardzo wrażliwe na stres i nadmierny wysiłek fizyczny (Lizko i wsp. 1987).

Wykazano, iż separacja od matki powoduje zmianę w składzie mikrobioty u noworodków małp Rhesus (Bailey i wsp. 1999). Ponadto już przedporodowe stresory mogą zaburzać skład mikrobioty u potomstwa małp Rhesus, redukując całkowitą liczbę *bifidobakterii* i *lactobacilli*. Te zmiany mogą skutkować także zwiększoną podatnością na infekcje i wskazują na istnienie mechanizmów wpływu stanu psychicznego matki podczas ciąży na skład i funkcje mikrobioty noworodków oraz na zdrowie potomstwa (Bailey i wsp. 2004).

Inne badania wykazały, że hormony stresu wpływały na wzrost niepatogennych izolowanych *Escherichii coli* oraz patogennych szczepów *E. coli* 0157:H7 poprzez interakcję z katecholaminami gospodarza, takimi jak adrenalina i noradrenalina (Freestone i wsp. 2002).

WNIOSKI

Dzięki bardzo dynamicznie rozwijającym się badaniom osi jelitowo-mózgowej i dwukierunkowych zależności pomiędzy jelitową florą bakteryjną a funkcjonowaniem OUN i ich rolą w patogenezie zaburzeń psychicznych, głównie depresyjnych i lękowych, pojawiają się nowe perspektywy terapeutyczne. Skłania to do szerszego, bardziej holistycznego spojrzenia na osoby chore psychicznie oraz na choroby psychiczne, m.in. depresję i zaburzenia lękowe, jako na zaburzenie psychoneuroimmunologiczne, w których patofizjologii procesy zapalne stanowią często kluczowe elementy. W tym kontekście wydaje się zasadne następujące spojrzenie na kwestię: jelita mogą stanowić „wrota”, a stres może stanowić „wytrych” do aktywacji układu immunologicznego, zwiększonej przepuszczalności bariery jelitowej, wpływu cytokin prozapalnych na metabolizm tryptofanu i jego metabolitów oraz do szeregu mechanizmów oddziaływań

cytokin prozapalnych na OUN. Bakterie jelitowe dzięki wpływowi na powyższe mechanizmy i poszczególne elementy osi jelitowo-mózgowej mogą stanowić wartościowe wsparcie w terapii zaburzeń psychicznych, a także przyczyniać się do profilaktyki efektów stresu, m.in. zapobiegając zwiększeniu przepuszczalności bariery jelitowej. Dalsze badania jelitowej flory bakteryjnej i wpływu probiotyków na funkcję OUN i ich mechanizmów terapeutycznych w kontekście zaburzeń psychicznych mogą stać się milowym krokiem ku poprawie skuteczności leczenia chorób psychicznych i dalszemu poznawaniu ich mechanizmów.

PIŚMIENNICTWO

1. Asperger H. Die Psychopathologie des coeliakakranken Kindes. Ann Paediatr 1961; 197: 146–151.
2. Bailey MT, Coe CL. Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. Dev Psychobiol 1999; 35: 146–155.
3. Bailey MT, Lubach GR, Coe CL. Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. J. Pediatr Gastroenterol Nutr 2004; 38, 414–421.
4. Baruk H. Digestive and hepatointestinal etiology of the various mental diseases. Schweiz Med Wochenschr. 1953 Sep 19; 83 (38 Suppl.): 1517–1518.
5. Baruk H, Camus L. Biliary & hepatic poisons in pathogenesis of schizophrenia; experimental study. Confinia neurologica 1958, 18 (2–4), 254–63.
6. Baruk H, Fabiani P. Study of blood ammonia in periodic psychosis and in the epileptic state. Psychotoxic value of certain digestive disorders therapeutic trials. Ann Med Psychol (Paris). 1962 Dec; 120 (2): 721–726.
7. Cazzola M, Tompkins TA & Matera MG. Immunomodulatory impact of a synbiotic in T (h)1 and T (h)2 models of infection. Ther Adv Respir Dis 2010; 4, 259–270.
8. Collins Stephen M., Michael Surette, Premysl Bercik. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. Nature Reviews Microbiology 2012; 10, 735–742.
9. Cryan John F i Timothy G. Dinan. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. Nature Reviews Neuroscience, published online 12 September 2012.
10. Demaude J, Salvador-Cartier C, Fioramonti J, Ferrier L, Bueno L. Phenotypic changes in colonocytes following acute stress or activation of mast cells in mice: implications for delayed epithelial barrier dysfunction. Gut 2006; 55, 655–661.
11. Desbonnet Lieve, Lillian Garrett, Gerard Clarke, John Bienenstock, Timothy G. Dinan. The probiotic Bifidobacteria infantis: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. Journal of Psychiatric Research 2009; 43, 164–174.
12. Desbonnet Lieve, Lillian Garrett, Gerard Clarke, B. Kiely, J.F. Cryan i Timothy G. Dinan. The effects of the probiotic Bifidobacterium infantis in the maternal separation model of depression. Neuroscience 2010; 170, 1179–1188.
13. Duerkop BA, Vaishnava S, Hooper L. V. Immune responses to the microbiota at the intestinal mucosal surface. Immunity 2009; 31, 368–376.
14. Forsythe P, Bienenstock J. Immunomodulation by commensal and probiotic bacteria. Immunol Invest 2010; 39, 429–448.
15. Freestone PP, Williams PH, Haigh RD, Maggs AF, Neal CP, Lyte M. Growth stimulation of intestinal commensal Escherichia coli by catecholamines: a possible contributory factor in trauma-induced sepsis. Shock 2002; 18, 465–470.

16. Gareau MG, Jury J, MacQueen G, Sherman PM, Perdue MH. Probiotic treatment of rat pups normalises corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation. *Gut* 2007; 56, 1522–1528.
17. Girard Stéphanie Anne, Thierno Madjou Bah, Sévan Kaloustian, Laura Lada Moldovan, Isabelle Rondeau, Thomas A. Tompkins i wsp. *Lactobacillus helveticus* and *Bifidobacterium longum* taken in combination reduce the apoptosis propensity in the limbic system after myocardial infarction in a rat model. *British Journal of Nutrition* 2009; 102, 10, 1420–1425.
18. Hemmings GP, Hemmings WA wyd. *Biological Basis of Schizophrenia*. Lancaster: MTP Press, 1978, 45–54.
19. Hemmings GP, Hemmings WA wyd. *Biological Basis of Schizophrenia*. Lancaster: MTP Press, 1978, 37–44.
20. Holdeman LV, Good IJ, Moore WE. Human fecal flora: variation in bacterial composition within individuals and a possible effect of emotional stress. *Appl Environ Microbiol* 1976; 31: 359–375.
21. Irwin MR, Miller AH. Depressive disorders and immunity: 20 years of progress and discovery. *Brain Behav Immun* 2007; 21: 374–383.
22. Iyer LM, Aravind L, Coon SL, Klein DC, Koonin EV. Evolution of cell-cell signaling in animals: did late horizontal gene transfer from bacteria have a role? *Trends Genet* 2004; 20, 292–299.
23. Javier A. Bravo, Paul Forsythe, Marianne V. Chew, Emily Escaravage, Hélène M. Savignac, Timothy G. Dinan i wsp. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve *PNAS* 2011; 108, 38.
24. Julianelle LA, Ebaugh FG, Implantation of *Bacillus Acidophilus* in persons with psychoses. *Arch Neurol Psychiatr* 1923, 9: 769–777.
25. Kaloustian S, Wann BP, Bah TM, Falcao S, Dufort AM, Ryvlin P i wsp. Celecoxib after the onset of reperfusion reduces apoptosis in the amygdala. *Apoptosis* 2007; 12, 1945–1951.
26. Kiliaan AJ, Saunders PR, Bijlsma PB, Berin MC, Taminiau JA, Groot JA i wsp. Stress stimulates transepithelial macromolecular uptake in rat jejunum. *Am J Physiol*. 1998 Nov; 275 (5 Pt 1): G1037–1044.
27. Lizko NN. Stress and intestinal microflora. *Nahrung* 1987; 31: 443–447.
28. Maes M. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1995; 19: 11–38.
29. Maes M, Kubera M, Leunis JC. The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro Endocrinol Lett*. 2008; 29 (1): 117–124.
30. Maes M, Leonard BE, Myint AM, Kubera M, Verkerk R. The new ‘5-HT’ hypothesis of depression: cell-mediated immune activation induces indoleamine 2,3-dioxygenase, which leads to lower plasma tryptophan and an increased synthesis of detrimental tryptophan catabolites (TRYCATs), both of which contribute to the onset of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011; 35: 702–721.
31. Mayer, E. A. Gut feelings: the emerging biology of gut–brain communication. *Nature Rev Neurosci* 2011; 12, 453–466.
32. Messaoudi Michael, Robert Lalonde, Nicolas Violle, Herve Javelot, Didier Desor, Amine Nejd i wsp. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *British Journal of Nutrition* 2011; 105, 755–764.
33. Moore WE, Cato EP, Holdeman LV. Some current concepts in intestinal bacteriology. *Am J Clin Nutr* 1978; 31 (Suppl.): S33–42.
34. Myint AM, Leonard BE, Steinbusch HW, Kim YK. Th1, Th2, and Th3 cytokine alterations in major depression. *Journal of Affective Disorders* 2005; 88 (2): 167–173.
35. Myint AM, Kim YK, Vertek R. i wsp. Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection. *Journal of Affective Disorders* 2007; 98: 143–151.
36. Nemeroff CB, Mayberg HS, Krahl SE, McNamara J, Frazer A, Henry TR, i wsp. VNS therapy in treatment-resistant depression: clinical evidence and putative neurobiological mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31, 1345–1355.
37. O’Keane V, Dinan TG, Scott L, Corcoran C. Changes in hypothalamic–pituitary–adrenal axis measures after vagus nerve stimulation therapy in chronic depression. *Biol. Psychiatry* 2005; 58 (12), 963–968.
38. O’Toole PW i Cooney JC. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. *Interdiscip. Perspect Infect Dis* 2008, art ID175285.
39. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C i wsp. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464, 59–65.
40. Pavlov VA, Tracey KJ. Neural regulators of innate immune responses and inflammation. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* September 2004, 61, 18, 2322–2331.
41. Phillips JGP, The treatment of melancholia by the lactic acid-bacillus. *J Mental Sci* 1910, 56: 422–431.
42. Rao A Venket, Alison C Bested, Tracey M Beaulne, Martin A Katzman, Christina Iorio, John
43. M Berardi i wsp. A randomized, double-blind, placebo controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathogens* 2009, 1: 6.
44. Rhee SH, Pothoulakis C, Mayer EA. Principles and clinical implications of the brain gut–enteric microbiota axis. *Nature Rev. Gastroenterol Hepatol* 2009; 6, 306–314.
45. Rudzki Leszek, Frank Monika, Szulc Agata, Gałęcka Mirosława, Szachta Patrycja, Barwinek Dominika. Od jelita do depresji – rola zaburzeń ciągłości bariery jelitowej i następcza aktywacja układu immunologicznego w zapalnej hipotezie depresji. *Neuropsychiatria i Neuropsychologia* 2012; 7, 2: 76–84.
46. Singh MM, Kay S. Wheat gluten as a pathogenic factor in schizophrenia. *Science* 1976; 191: 191–192.
47. Song C, Dinan T, Leonard BE. Changes in immunoglobulin, complement and acute phase protein levels in the depressed patients and normal controls. *J Affect Disord* 1994; 30: 283–288.
48. Sudo Nobuyuki, Yoichi Chida, Yuji Aiba, Junko Sonoda, Naomi Oyama, Xiao-Nian Yu i wsp. Postnatal microbial colonization programs the HPAsystem for stress response in mice. *J Physiol* 2004; 558 (Pt 1): 263–275.
49. Sudo N. Stress and gut microbiota: does postnatal microbial colonization program the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response? *Int Congr Ser* 2006; 1287, 350–354.
50. Suzuki K, Harasawa R, Yoshitake Y, Mitsuoka T. Effects of crowding and heat stress on intestinal flora, body weight gain, and feed efficiency of growing rats and chicks. *Nippon Jujigaku Zasshi* 1983; 45: 331–338.
51. Thomas RH, Meeking MM, Mephram JR, Tichenoff L, Possmayer F, Liu S. The enteric bacterial metabolite propionic acid alters brain and plasma phospholipid molecular species: further development of a rodent model of autism spectrum disorders. *J Neuroinflamm* 2012; 9, 153.
52. Timoveyev I, Loseva E, Alekseeva T, Perminova N. Stability to sound stress and changeability in intestinal microflora. *Eur Psychiatry* 2002; 17 (Suppl. 1): 200.
53. Velin A, A-C Ericson, Y Braaf, C Wallon, J D Soderholm. Increased antigen and bacterial uptake in follicle associated epithelium induced by chronic psychological stress in rats. *Gut* 2004; 53: 494–500.

54. Xu J, Mahowald MA, Ley RE, Lozupone CA, Hamady M, Martens EC i wsp. Evolution of symbiotic bacteria in the distal human intestine. *PLoS Biol* 2007; 5, e156.
55. Yang Ping-Chang, Jennifer Jury, Johan D. Soderholm, Philip M. Sherman, Derek M. McKay, Mary H. Perdue. Chronic Psychological Stress in Rats Induces Intestinal Sensitization to Luminal Antigens. *American Journal of Pathology* 2006; 168, 1.
56. Wagar LE, Champagne CP, Buckley ND, Raymond Y, Green-Johnson JM. Immunomodulatory properties of fermented soy and dairy milks prepared with lactic acid bacteria. *J Food Sci* 2009; 74 (8).
57. Wakefield AJ, Murch SH, Anthony A, Linnell J, Casson DM i wsp. Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 1998; 351: 637–641.
58. Wakefield AJ, Anthony A, Murch SH, Thomson M, Montgomery SM i wsp. Enterocolitis in children with developmental disorders. *American Journal of Gastroenterology* 2000; 95: 2285–2295.
59. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dig Dis Sci* 2012; 57, 2096–2102.
60. Wann BP, Bah TM, Kaloustian S, Boucher M, Dufort AM, Le Marec N i wsp. Behavioural signs of depression and apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: effects of sertraline. *J Psychopharmacol* 2009; 23, 451–459.
61. Wichers MC, Maes M. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon- α -induced depression. *J Psychiatry Neurosci* 2004; 29: 11–17.
62. Zareie M, K Johnson-Henry, J Jury, P-C Yang, B-Y Ngan, D M McKay i wsp. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut* 2006; 55: 1553–1560.

Adres do korespondencji:

Leszek Rudzki

Klinika Psychiatrii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

pl. Brodowicza 1, 16-070 Choroszcz

tel.: +48 501217469

e-mail: rudzki.l@gmail.com
