

HET EERSTE BREIN

M.D.DE BOER

Een thesis ter verkrijging van de graad van Diploma of Osteopathy

College voor Osteopathie Sutherland Amsterdam

Integraal Medisch Centrum

Juli 2019

For this is the great error of our day that the physicians separate the soul from the body

- Hippocrates, 6^e eeuw voor Christus

Inhoudsopgave

1. SAMENVATTING	3
2. ABSTRACT	4
3. VOORWOORD.....	5
4. DANKWOORD	6
5. METHODIEK	7
1. PROBLEEMSTELLING	7
5.2 TOEGEPASTE METHODIEK	7
6. INTRODUCTIE	9
1. VERDENKINGEN VAN DE DARM	9
6.2 EEN ONDERBUIKGEVOEL	9
6.3 EEN BI-DIRECTIONELE CONVERSATIE	10
7. DE DARM-HERSEN-AS; HET HORMONALE DEEL	12
1. EEN ROL VOOR SEROTONINE EN METABOLIETEN	12
2. PROBIOTICA, VOORSTANDERS VAN EEN FUNCTIONEEL MICROBIOOM	18
2. DE DARM-HERSEN-AS; HET NEURALE DEEL	24
2.1.EMOTIONEEL VAN PROBIOTISCHE YOGHURT	24
2.2.VAGALE PROJECTIES VAN DE DARMFLOORA	26
2.3.HET EERSTE BREIN	30
3. HET MICROBIOOM EN GEDRAG	35
3.1.OVERLEVEN DANKZIJ EEN GEZOND MICROBIOOM	35
3.2.POEPTRANSPLANTATIES	36
3.3.DE DARMFLOORA, EEN RELATIE MET LEVER EN NIERFUNCTIE?	38
3.4.DEPRESSIVITEIT	38
3.5.ANGST	39
6. STRESS	40
4. DE EFFECTEN VAN OSTEOPATHIE	42
4.1.OSTEOPATHIE, EEN DANKBAAR VAK	42
4.2.OSTEOPATHIE EN AUTISME	42
4.3.OSTEOPATHIE IN DE MAAG GESPLITST	45
4.4.OSTEOPATHIE, AUTONOME BALANS EN HPA-AS ACTIVATIE, TWEE VLIEGEN IN ÉÉN KLAP	47
4.5.OSTEOPATHIE EN CEREBRALE ACTIVATIE	50
5. CONCLUSIE	52

1. Samenvatting

Het menselijk lichaam is een functionele eenheid, en alle systemen in ons lijf streven naar het bewaken van homeostase. Dit geldt niet alleen voor somatische homeostase, immers in de holistische visie van de osteopathie zijn lichaam en geest onlosmakelijk met elkaar verbonden. Maar wat zegt de wetenschappelijke literatuur over deze visie? Wat is er bijvoorbeeld bekend over de relatie tussen darm en hersenen en gedrag? Als we kijken naar ons complexe spijsverteringskanaal zien we dat deze meer dan 100 biljoen verschillende micro-organismen, waaronder bacteriën, archaea, gisten, eukaryoten, parasieten en virussen huist. Al deze microben vervullen een breed scala aan functies en de consensus is dat deze noodzakelijk zijn voor een goede gezondheid.

Dit microbioom ligt aan de basis van een aantal essentiële fysiologische processen waaronder spijsvertering, groei, en het behouden van (of streven naar) homeostase. Ook zijn de microbiota geïmpliceerd in een aantal chronische aandoeningen, zoals chronische inflammatoire ziekten, obesitas, astma en vele andere. Meer en meer “bewijs” uit studies bij dieren én bij mensen stelt dat de microbiota een integrale rol spelen in de hersenfunctie en in angst- en stemmingsstoornissen. De mechanismen die hieraan ten grondslag liggen zijn nog niet volledig begrepen, maar de wetenschappelijk literatuur lijkt richting een bi-directionele informatie snelweg tussen hersenen en darm te duiden, waarbij er een gesprek gevoerd wordt tussen de darmmicroben, het centrale zenuwstelsel, via autonome, autocriene, paracriene, neuroendocriene, en immunologische wegen.

Belangrijke deelnemers aan dit gesprek zijn hoogstwaarschijnlijk de nervus vagus, metaboliëten van de darmmicroben, bepaalde signaalpaden van het centrale zenuwstelsel, en meerdere neurotransmitters en neurotrofinen in de hersenen. In dit werk wordt de nadruk gelegd op het beschrijven van hoe de darmflora de ontwikkeling en functie van het enterisch en centrale zenuwstelsel, en uiteindelijk gedrag kan beïnvloeden. De functie van verschillende componenten van de darm-hersenas zullen besproken worden en hun aandeel in de specifieke

neurobiologische signaalpaden uitgelicht. Tot slot, maar zeker niet ten minste, zal de mogelijke rol van betekenis van de osteopathie in dit verhaal geïntegreerd worden.

The human body operates as one functional unit, the systems in our body aim towards homeostasis. In the holistic osteopathic view this is not only true for somatic homeostasis, but also for mental homeostasis because in this view the mind and body are inseparably interconnected. However, what is currently known in the scientific literature about this opinion? For example, what is the current knowledge about the relationship between the gut and the brain and behaviour? When we regard our intrinsically complex gastro-intestinal tract we find that it houses over a trillion different micro-organisms, including bacteria, archaea, yeasts, eukaryotic cells, parasites and viruses. Each one of these microbes fulfills a large amount of functions within the gut and the agreement is that these functions are paramount to good health.

This microbiome is the foundation for many essential physiological processes, including digestion, growth and guarding (or aiming for) homeostasis. Furthermore, these microbiota are implicated in a number of chronic conditions, such as chronic inflammatory diseases, obesity, asthma, and many others. More and more evidence is available for both animal and human studies that these microbes in the gut play an integral part in brain function and anxiety and mood disorders. The mechanisms responsible for this are not yet fully understood, yet the scientific literature seems to point in the direction of a bi-directional “information highway” lying between the gut and the brain. It looks like there is conversation being held between the gut microbes and the central nervous system, through autocrine, paracrine, neuroendocrine, and immunological pathways.

Important attendees contributing to this conversation are likely to be the vagus nerve, microbial metabolites, several signalling pathways in the central nervous system and multiple neurotransmitters and neurotrophins in the brain. In this thesis the emphasis will be placed on elucidating how exactly the gut microbes influence development and function of the enteric and central nervous systems, and eventually behaviour. The function of several different components of the gut brain axis will be discussed and their contribution to the specific neurobiological signalling pathways highlighted. And last, but certainly not least, the influence of osteopathic treatment and the implications of the current knowledge for the field of osteopathy will be integrated in this narrative.

Het idee voor dit literatuuronderzoek is ontstaan na het uitkomen van het artikel: *A Neural Circuit for Gut-Induced Reward* van Han en collega's in 2018. Ik stuurde dit artikel door naar Rob Muts waarop hij antwoordde dat dit zijn orgaanpsyche onderbouwde. Na overleg leek dit een mooie gelegenheid voor verder literatuuronderzoek. Oorspronkelijk was het idee om een praktische lesmethodiek in de Osteopathie zoals onderwezen aan de Universiteit van Helsinki uit te diepen en te vertalen naar het concept van College Sutherland (onder begeleiding van Rob Muts). Echter, daar de communicatie erg moeilijk en traag verliep en de deadline van het in te leveren voorstel snel naderde, is op het allerlaatste moment toch besloten om de optie van het literatuuronderzoek uit te gaan werken. Wat mij aantrok in de (erg complexe) studie van Han en collega's was dat er een duidelijke link werd beschreven tussen darm en gedrag met een mogelijke verklaring van structuren die deze link maakten via onder andere de nervus vagus.

Er wordt wel gezegd dat de nervus vagus voor ongeveer 75% deel uit maakt van de activiteit van het parasympathisch deel van het autonome zenuwstelsel. De nervus vagus staat ook wel bekend als het rempedaal. Rust en vertering worden gecorreleerd aan verhoogde activiteit van dit deel. Blijkbaar is dit een visie die bijgesteld moet gaan worden, aangezien het ook activerend lijkt te zijn, zo blijkt uit bovenstaande studie. De interessante implicatie van de studie van Han en collega's is dat er naast de voornamelijk bekende hormonale relaties tussen darm en brein nu een directe neurologische link is aangetoond tussen darm en gedrag.

Het spijsverteringssysteem wordt zo onderhand erkend als een zeer belangrijke speler in het reguleren van motivatie en emoties. Echter hoe dit precies gebeurt blijft grotendeels onbekend. Bovenstaande studie leidde tot een gewekte interesse in wat er nu wel bekend is over de invloed van de organen op het gedrag, en in wat er met betrekking tot de praktijk over het vak osteopathie bekend is in relatie tot deze kennis. Het eerste plan was om alle organen mee te nemen in de literatuurstudie, maar al gauw kwam ik erachter dat alleen al de literatuur die betrekking had op de darm een veel te grote hoeveelheid is om te kunnen vergelijken. Ik hoop in dit werk een duidelijk overzicht te geven van de verschillende aspecten van de darmhersen as en de (mogelijke) toepassing binnen de osteopathie hiervan.

De afgelopen zes jaar zijn voorbij gevlogen. Zo stond ik nog in een ballon te knijpen in de demo les tijdens de open dag, zo schrijf ik nu de laatste woorden in de thesis ter afronding van de opleiding. Wat een bijzondere reis is het geweest, zowel op osteopathisch als op persoonlijk vlak. Ik heb ontzettend veel geleerd, en heb veel goede mensen leren kennen. De start verliep niet geheel vlekkeloos, en even leek het erop dat ik met mijn verbrijzelde schouder de opleiding zou moeten staken. Maar mede dankzij de steun van mijn medestudenten en het docententeam lukte het uiteindelijk toch allemaal.

Ik wil hierbij dan ook iedereen bedanken die eraan heeft bijgedragen dat ik deze opleiding heb kunnen afmaken. Mijn klasgenoten, ook al zijn we niet meer helemaal compleet en zijn we verspreid over de verschillende leerjaren geraakt. De docenten, die altijd net even dat extra beetje aandacht wilden geven wanneer dat nodig was en die altijd klaar stonden voor vragen en suggesties. In het bijzonder wil ik Jeroen de Block bedanken voor het op het allerlaatste moment aannemen van de rol als mijn promotor en voor de tijd een aandacht die je toch nog in voor werk wist te hebben. Het Secretariaat voor het draaiende houden van de toko. De patiënten die ik in de co-therapie heb behandeld, waarvan de meesten uit Den Helder helemaal naar Amsterdam wilden komen. Mijn familie en vrienden die op alle mogelijke manieren hebben gesteund waarvan ze vaak niet eens bewust op de hoogte waren. En Caro, voor je vertrouwen en geduld en optimisme wanneer het niet vanzelf ging. Bedankt!

5.

Methodiek

5.1 Probleemstelling

De “Orgaanpsyche” zoals onderwezen als postacademische cyclus aan het College Sutherland relateren aan wat er momenteel bekend is in de biomedische literatuur:

- Uitdiepen van de neurale, hormonale en immunologische basis van de ‘gut-brain axis’.
- Wat is de relatie tussen de status van ons “buikbrein” en het ontstaan van bepaalde psychologische ziektebeelden c.q. gedrag? Wat is de invloed van blootstelling aan trauma en stress op jonge leeftijd op de ontwikkeling van het microbiom op latere leeftijd? En wat is de invloed van probiotica?
- Wat is er bekend in de literatuur over de invloed van osteopathie behandelingen op de “status” van ons buikbrein of lijfbrein (en met name het microbiom)?
- In het kader van de osteopathische relevantie, vormt dit een andere wetenschappelijke onderbouwing voor de osteopathische principes:
 - Het menselijk organisme is een biologische eenheid, daarbij geen onderscheidt makend tussen lichaam, psyche, emoties of gedrag.
 - Functie creëert structuur en structuur dirigeert de functie, daarmee onderbouwend dat dit iedere functie betreft, ook psychologisch

5.2 Toegepaste methodiek

Literatuuronderzoek (PubMed, Cochrane database, College Sutherland Bibliotheek, Cursusmateriaal)

Het idee om de gehele orgaanpsyche te onderbouwen vanuit de Westerse wetenschap is, zoals ook al aangegeven door de commissie die het concept heeft beoordeeld, erg hoog gegrepen. Zeker voor de thesis zoals deze geschreven moet worden aan het College Sutherland. Dat zal

eerder een levenswerk moeten worden. Daarom is voor deze literatuurstudie besloten alleen op de darm te focussen en met name het op microbioom en het enterisch en centrale zenuwstelsel. Zelfs hierover bestaat al een te grote hoeveelheid literatuur om allemaal gelezen en beoordeeld te hebben binnen de beschikbare tijd. Normaliter voor het schrijven van een literatuur review worden artikelen geïndiceerd naar kwaliteit volgens de Jadad schaal, of het Oxford quality scoring systeem. Deze literatuurstudie kan als meer explorerend beschouwd worden. Het is dan ook niet de bedoeling geweest om de huidige literatuur over een onderwerp een kwaliteit toe te wijzen en op basis daarvan te bepalen of een studie dan wel of niet meegenomen wordt in dit werk. Bovendien is het onderwerp ook lastig in te kaderen. Er zijn nu eenmaal geen double blind randomized controlled trials (RCT) te vinden over de effecten van osteopathie op veranderingen in bepaalde gedragspatronen of cognitieve ziektebeelden gerelateerd aan aanpassingen in het microbioom die voldoen of zelfs kunnen voldoen aan de voorwaarden volgens de gouden standaarden van de RCT. Dit is conceptueel niet mogelijk, net zoals het conceptueel niet mogelijk is om met wetenschap het bestaan van een God aan te tonen. Maar deze discussie over de aard van de methodologie en de osteopathie is er één die buiten de scope van dit werk valt.

In het licht van deze overwegingen is een literatuursearch gedaan naar bronnen vanuit verschillende databases, zoals hierboven beschreven. De literatuur werd als relevant beschouwd als er een duidelijke relatie te bepalen viel met de vraagstukken die hierboven staan beschreven. De gebruikte zoektermen waren: “psychoneuroimmunology”, “(gut)-microbiota”, “gut-brain axis”, “microbiome”, “cognitive”, “behaviour(al)”, “osteopathic manipulative treatment”, “visceral osteopathic technique”, en meerdere aanverwante termen. De meeste relevante literatuur is hopelijk op deze manier gevonden, maar ik zal hier gelijk aangeven dat deze niet compleet is geweest. Er zullen waarschijnlijk meerdere relevante artikelen niet geselecteerd zijn voor verdere uitdieping die op het eerste oog niet relevant leken. Net zoals er meerdere artikelen geselecteerd waren die later niet relevant bleken. Hoe dan ook, deze thesis zal een “work in progress” blijven aangezien de brug tussen theorie en praktijk slaan een rol is die ik mijzelf zie blijven vervullen in mijn toekomst binnen de osteopathie.

Een aantekening over de Cochrane Library: de searches die ingevoerd werden in Cochrane waren helaas niet toegankelijk vanuit ons Instituut en helaas ben ik op dit moment ook niet

aangesloten bij een Instituut die wel toegang heeft. Dit geeft gelijk wederom aan dat dit een incomplete literatuurstudie is.

6.

Introductie

6.1 Verdenkingen van de darm

Het idee dat de darmen een rol spelen in ziekte en welzijn is niet alleen van deze tijd. In zijn boek *The mind-gut connection* (Mayer 2016) beschrijft Emeran Mayer hoe men in het oude Egypte al dacht dat rottend voedsel in de darmen toxinen kon vormen die vervolgens via de bloedbanen koorts konden veroorzaken, wat uiteindelijk tot ziekte zou leiden. In de oud-Egyptische Ebers Papyrus, een medisch handboek uit de 14^e eeuw voor Christus, staan bijvoorbeeld richtlijnen beschreven om met behulp van een klysma meer dan twintig verschillende soorten maag – en darmklachten te verhelpen. Het idee was dat dit werkte door het uitdrijven van de uitwerpselen.

Deze techniek werd ook door de Sumerianen, Babyloniërs en Assyriërs toegepast. In India werd dit ook binnen de Ayurveda gebruikt als belangrijkste methode voor detoxificatie van de darmen, waarmee artritis, rugpijn, constipatie, IBS, allerlei neurologische problemen, en zelfs obesitas behandeld werden. In Azië werden een te hoog cholesterol gehalte, fibromyalgie, allergieën, kanker en chronische vermoeidheid met soortgelijke technieken aangepakt. In de westerse geneeskunde dacht een van de grondleggers Hippocrates ook dat de darm ook een belangrijk aandeel had in het ontstaan van ziekte. Hij schijnt zelfs gezegd te hebben dat alle ziektes in de darm beginnen (Mayer 2016). Kortom, al erg vroeg werd de darm dus als belangrijke oorzaak van een groot scala aan ziektebeelden gezien.

6.2 Een onderbuikgevoel

In de klinische wereld is het al enige tijd bekend dat de darm naast de digestieve functie een belangrijk sensorisch orgaan is en dat het onder andere warmte, koude, pijn, mechanische rek, zuurgraad, de aanwezigheid van bepaalde micro en macro-nutriënten in het voedsel kan waarnemen. Ook leek het erop dat deze darm sensaties of “gut feelings” naar de hersenen communiceert met behulp van hormonen, signaalstoffen van immuuncellen, en via sensorische vezels van in het bijzonder de nervus vagus (Mayer et al. 2016). Ook had men al het idee dat wanneer wij bepaalde emoties ervaren, gespecialiseerde programma’s met betrekking tot emoties in het brein ervoor zorgen dat er typerende patronen van darmcontracties, doorbloeding, en afscheiding van verteringssappen voor iedere emotie kunnen veroorzaken (Mayer et al. 2016). Het blijkt ook dat deze reacties in de darm op hun

beurt weer terug in de hersenen een invloed kunnen hebben op het moduleren of creëren van “gut feelings”, en waar ze vervolgens opgeslagen kunnen worden als emotionele herinneringen van een bepaalde gebeurtenis (Mayer et al. 2016).

6.3 Een bi-directionele conversatie

Het centrale zenuwstelsel (CZS) communiceert met het enterisch zenuwstelsel (EZS) via para- en orthosympatische takken van het autonome zenuwstelsel (ZS), het onbewuste deel van het ZS dat o.a. de hartslag, ademhaling en spijsvertering regelt. Het autonome ZS beïnvloedt ook de snelheid waarmee voedsel door de darm reist, de afscheiding van zuur in de maag en de productie van slijm op de darmwand. De hypothalamus-hypofyse-bijnieras (HPA-as, hypothalamic-pituitary-adrenal) is een ander mechanisme waarmee de hersenen met de darm kunnen communiceren om de spijsvertering met behulp van hormonen aan te sturen.

Dit circuit van neuronen, hormonen en chemische neurotransmitters stuurt niet alleen info over de status van de darm naar de hersenen, maar geeft ook de mogelijkheid aan de hersenen om de darmomgeving direct te beïnvloeden. Dus de hersenen kunnen direct de omgevingsomstandigheden van de microbiota beïnvloeden, maar de microbiota hebben ook een directe invloed op wat er in de hersenen wordt ervaren. Microben zijn afhankelijk van de slijmlaag die aanwezig is, wat ook weer een directe link met het autonome ZS weergeeft. Hier bestaat dus een mogelijkheid van de hersenen om te beïnvloeden welke microben er in de darm leven.

Andersom is er ook een informatiestroom van de darm naar de hersenen. Er is fylogenetisch gezien sprake van een hiërarchie in hoe deze informatie uitwisseling is opgebouwd. Er ontstaat immers eerst een digestief systeem en later pas een zenuwstelsel. Ook in het ontstaan van deze zenuwstelsels kan weer een fylogenetische opbouw teruggevonden worden: eerst ontwikkelt zich het enterisch zenuwstelsel, daarna pas het centrale zenuwstelsel (hierover meer in het hoofdstuk 7). Deze hiërarchie blijft in wezen in ons organisme voorhanden in de mate dat de eerder gevormde systemen een hoger gezondheidspotentiaal zouden hebben en ook minder afhankelijk zouden zijn van de fylogenetisch jongere systemen (persoonlijke communicatie met J. de Block, mei 2019).

Recente resultaten (waarover later meer), laten zien dat onze hersenen zich niet alleen 'bewust' zijn van onze darmmicroben, maar dat deze bacteriën ook onze perceptie van de wereld om ons heen kunnen beïnvloeden en ons gedrag kunnen veranderen. Het wordt dus steeds duidelijker dat de invloed van onze darmbacteriën veel verder reikt dan tot onze darm en zelfs onze geest kan beïnvloeden. Als we kijken naar de hoeveelheid inwoners van onze darmen zien we dat onze microbiota tot wel 2 kg kunnen wegen en op zijn minst bestaan uit wel 1000 verschillende soorten bacteriën die meer dan 3 miljoen genen bevatten (Bermon et al. 2015). Onlangs zijn de darmflora in relatie gebracht met verschillende aandoeningen van het zenuwstelsel en zelfs neuro-psychiatrische aandoeningen zoals depressie, angststoornissen en autisme (Cryan & Dinan 2012, Foster & McVey Neufeld 2013). Hierover meer in de volgende hoofdstukken, waar een poging wordt gedaan de opbouw van deze darm-hersen-as uit te werken en de invloed van onze darmen op verschillende ziektes en gedrag te beschrijven. Uiteindelijk moet dit leiden tot een vertaalslag naar de osteopathie en wat het vak voor betekenis kan hebben in de verklaring van effecten bij verschillende aandoeningen.

7. De darm-hersen-as; het hormonale deel

7.1 Een rol voor serotonine en metaboliëten

Serotonine staat erom bekend dat het onder normale omstandigheden de spijsvertering op een gelijkmatige manier helpt te verlopen. Een van de bekende mechanismen waardoor serotonine vrijkomt is door het mechanische “wrijven” van de darminhoud langs de zogenaamde enterochromaffine cellen. Het vrijgekomen serotonine prikkelt de nervus vagus en het ENS, waardoor het ENS op de hoogte blijft van wat er door de darm beweegt, en waardoor de peristaltiek geactiveerd wordt. Het aminozuur tryptofaan is een noodzakelijk onderdeel voor de vorming van serotonine. Na een dieet dat geen tryptofaan bevatte bleken de serotonine concentraties in de hersenen verlaagd, waardoor het “arousal”-mechanisme in de hersenen meer actief werd (Mayer 2016). Niet alleen heeft dit effect op de hersenen zelf maar deze veranderingen gaan ook gepaard met een toegenomen gevoeligheid voor mechanische stimulatie van het colon, en hetzelfde dieet leek ook de kans op depressie-achtige symptomen te vergroten in individuen die daar gevoelig voor waren (Mayer 2016).

De rol van serotonine als belangrijk signaal molecuul in de communicatie tussen de darm en hersenen is inmiddels welbekend. Dit communicatie systeem houdt onze hersenen op de hoogte van wat er gebeurt in de darm met betrekking tot voedsel, de activiteit van ons spijsverteringsstelsel, de status van ons microbiom en de invloed van bepaalde medicatie op onze darmen, en over hoe wij ons voelen. Zenuwen die serotonine bevatten in de darmen hebben een belangrijke rol in de peristaltiek, terwijl de groepen serotonine bevattende cellen in de hersenen informatie naar vele structuren in het brein sturen die betrekking hebben op trek, pijn gewaarwording en stemming. Het is niet moeilijk ons voor te stellen dat serotonine een rol kan spelen in het prettige gevoel dat we krijgen na het eten van een goede maaltijd bijvoorbeeld, en dat het voedsel dat in de darm langs de enterochromaffine (EC) cellen ‘wrijft’ een positief effect heeft op de affectieve centra in het brein. Ook al lijken we grotendeels niet bewust van het ontzettend complexe sensorische systeem in onze darmen, is deze sensoriek van uitermate groot belang voor de coördinatie van de darmfunctie in het algemeen met betrekking tot de spijsvertering zelf. Aan de andere kant is de communicatie tussen de darm en de hersenen van groot belang voor onze gezondheid en welzijn, en onze gevoelens.

Serotonine wordt, naast de rol als een neurotransmitter in het brein, gezien als een belangrijke regulerende factor in het spijsverteringskanaal en andere orgaansystemen. Meer dan 90% van deze monoamine (5hydroxytryptamine, of 5-HT) wordt in de darm aangemaakt. Uit het gegeven dat serotonine op minstens 14 verschillende 5-HT receptor subtypes kan binden kunnen we opmaken dat serotonine meerdere signaalpaden kan beïnvloeden (Gershon & Tack 2007). Deze verschillende receptor subtypes waarop serotonine zich kan binden bevinden zich op onder andere enterocyten (Hoffman et al. 2012), enterische neuronen (Mawe & Hoffman 2013) en immuun cellen (Baganz & Blakely 2013). Bovendien wordt 5-HT gebonden aan circulerende bloedplaatjes afgegeven aan verschillende plaatsen in het lichaam (Amireault et al. 2013).

Op deze manier speelt 5-HT afkomstig vanuit de darm een rol in allerlei processen, waaronder enterische motor – en secretoire reflexen (Gershon and Tack 2007), aggregatie van bloedplaatjes (Mercado et al. 2013), immuun reacties (Baganz and Blakely 2013) en ontwikkeling van botweefsel (Chabbi-Achengli et al. 2012; Yadav et al. 2008) en hart functie (Cote et al. 2003). Bovendien lijkt het dat serotonine ook betrokken is bij bepaalde ziektebeelden. Studies hebben aangetoond dat ontregeling van 5-HT een rol speelt in de pathogenese van bijvoorbeeld IBS (Stasi et al. 2014), cardiovasculaire aandoeningen (Ramage & Villalon 2008) en osteoporose (Ducy & Karsenty 2010). Bovendien worden lage concentraties van tryptofaan geassocieerd met veranderingen in de functie van het immuunsysteem (Song et al. 1998, Schrocksnadel et al. 2006).

De mechanismen die de synthese, afbraak en modificatie van 5-HT in de darm controleren zijn nog niet helemaal duidelijk. We weten wel dat 5-HT in de darm gevormd wordt door speciale endocriene cellen, enterochromaffine cellen (EC's) genaamd, alsook door mucosale mest cellen en myenterische neuronen (Gershon and Tack, 2007). Maar de betekenis van de vorming van 5-HT door deze verschillende cellen blijft vooralsnog onbekend. Volgens Walther et al. (2003) is het bovendien zo dat de vorming van neuraal en non-neuraal serotonine gereguleerd wordt door twee verschillende iso-enzymen van tryptofaan hydroxylase (Tph), maar verder is er weinig bekend over de signaalpaden die de expressie en synthese van dit Tph controleren. Kortom, er bestaat nog veel onduidelijkheid over wat nu de

exacte rol is die serotonine speelt binnen het enterisch zenuwstelsel, en hoe gevarieerd deze rol eigenlijk is.

Zoals al eerder besproken speelt het microbioom in zoogdieren een belangrijke rol in gezondheid en verschillende ziektebeelden. Onlangs hebben verschillende onderzoeken aangetoond dat de microbiota een rol spelen in het reguleren van serotonine concentraties in het bloed, en dat in muizen zonder microbioom deze serotonine concentraties behoorlijk verlaagd zijn (Sjogren et al. 2012, Wikoff et al. 2009), vergeleken met normale muizen. Bovendien zijn de enterochromaffine cellen in de darm groter in de muizen die geen microbiota hebben (Uribe et al. 1994), wat zou suggereren dat de microbiota invloed hebben op de ontwikkeling en functie van deze cellen. Tsavkelova et al. (2006) toonden in hun onderzoek aan dat sommige bacterie soorten die in vitro zijn “geteeld” 5-HT kunnen produceren, waardoor we de vraag kunnen stellen of het mogelijk is dat sommige stammen van de microbiota die in onze darmen huizen bij kunnen dragen aan de serotonine levels in ons lichaam naast de vorming door de eerder genoemde cellen.

Yano et al. (2015) probeerden een antwoord op deze vraag te vinden door proberen te achterhalen hoe de inverschillende signaalwegen van de vorming en afbraak van serotonine beïnvloed kunnen worden door de darmmicrobiota. Ook probeerden zij specifieke microbe stammen en factoren te identificeren die bijdragen aan serotonergische effecten en om te evalueren hoe de regulatie van serotonine door de microbiota de gastheer/vrouw fysiologisch gezien beïnvloedt. Zij konden aantonen dat het inderdaad zo is dat de darmmicroben de productie van serotonine in de EC's van het colon bevorderen. Met name de spore-forming microben (Sp) van gezonde muizen en mensen hebben effect op de concentraties van serotonine in het bloedserum, de darm en in de ontlasting. Bovendien denken de auteurs dat bepaalde metabolieten van de Sp microbiota directe signalen naar de EC cellen sturen om de biosynthese van 5-HT te stimuleren. En aangezien de veranderingen in de darmconcentraties van 5-HT een invloed hebben op de darmmotiliteit en hemostasis suggereren deze resultaten dat het aanpakken van het microbioom (en daardoor de beschikbaarheid van perifeer 5-HT) een ingang zou kunnen zijn voor het behandelen van serotonine gerelateerde ziektebeelden.

Deze geobserveerde interactie tussen gastheer en microbiota draagt bij aan een steeds groter wordende waardering van het idee dat het microbioom vele aspecten van de fysiologie van de tractus digestivus kan beïnvloeden. Dit gebeurt door communicatie via directe en indirecte

signalen van het microbioom naar de cellen van de gastheer. Het blijft overigens nog steeds onduidelijk of sommige stammen van de microbiota direct zelf bijdragen aan de novo synthese van serotonine (Yano et al. 2015). Wel zijn er studies die aantonen dat bepaalde bacteriën, zoals *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp. en *Escherichia coli*, in vitro 5-HT kunnen produceren (Roshchina 2010). Dit zou echter onafhankelijk van Tph gebeuren door decarboxylatie van tryptopfaan naar tryptamine (Williams et al. 2014), net zoals dit proces in planten verloopt (Oleskin et al. 1998). Blijkbaar is de activiteit van Tph in dieren noodzakelijk voor de regulatie van serotonine levels in het bloed en in de darm. Wanneer er een stofje aan de darm wordt toegevoegd (PCPA) dat de activiteit van Tph negatief beïnvloedt zien Yano et al. (2015) namelijk dat de microbiota hun vermogen verliezen om bloed-en darm levels van 5-HT te bevorderen. Ook een eerdere studie liet dit zien waarin muizen, waarvan de functie van Tph1 geblokkeerd werd, meer dan 90% van de normale hoeveelheden 5-HT in de darmen en in het bloed misten (Savelieva et al. 2008). Dit zou erop wijzen dat de overgebleven tien procent direct gevormd wordt door het microbioom, of door Tph2 gemedieerde biosynthese.

Verdere ondersteuning van het idee dat de vorming van 5-HT voornamelijk plaatsvindt door beïnvloeding van de EC cellen via de microbiota komt uit de observatie dat de microbiota relatief hoge levels van 5-HT gevonden in de periferie, in de darm en in het bloed reguleren (Yano et al. 2015, Sjogren et al. 2012, Wikoff et al. 2009). Ook blijkt dat de concentratie 5-HT in de feces beïnvloed wordt door de microbiota (Yao et al. 2015), wat aansluit bij het idee dat EC cellen kleine hoeveelheden 5-HT afgeven in het lumen. Bovendien is het interessant dat de aanwezigheid van 5-HT in vitro de groei van een aantal intestinale microbe stammen bevordert (Oleskin et al. 1998, Tsavkelova et al. 2006). Dit leidt tot de interessante vraag of sommige bacterie stammen serotonine produceren om kolonisatie en groei van zichzelf te bevorderen. Op deze vraag is vooralsnog geen antwoord, maar het leidt wel tot de hypothese dat zorgen voor een goede, gezonde darmomgeving kan leiden tot een positieve spiraal, gemedieerd door serotonine.

Specifieke spore-forming microben uit gezonde specific pathogen free (SPF) muizen en gezonde menselijke darmen hebben een aanzienlijk effect op de concentraties van 5-HT in het colon en in het bloed (Yano et al. 2015). Met betrekking tot een mogelijke betekenis van serotonine voor het immuunsysteem, valt op dat spore-forming microben ook specifiek de

concentraties van T-cellen in het colon, maar niet in het intestinum bevorderen (Atarashi et al. 2013). Interessant genoeg is deze regionale specificiteit ook terug te zien bij de aanmaak van serotonine die met name plaatsvindt in de enterochromaffine cellen van het colon, maar niet in het intestinum. Ook neemt het bewijs toe dat verschillende typen immuuncellen (zowel aangeboren als verworven) een grote verscheidenheid aan 5-HT receptoren bevatten (Baganz & Blakely 2013). Dus de vraag kan gesteld worden of serotonine concentraties, wellicht met medewerking van bepaalde spore-forming microben, een invloed kunnen hebben op de cellulaire immuniteit. De huidige kennis lijkt inderdaad in deze richting te wijzen maar dit moet uiteraard nauwkeurig onderzocht worden. De positieve spiraal van een gezonde darmomgeving zouden we dus wellicht door kunnen trekken naar het immunologische vlak.

Deoxycholaat is een secundair galzuur dat gevormd wordt bij de microbiële biotransformatie van cholaat, en het is bekend dat deoxycholaat de motiliteit van de tractus gastro-intestinalis (TGI) bevordert doordat deze stof bepaalde transmembraan (TGR5) G-proteïne-gekoppelde receptoren van de enterochromaffine cellen kan activeren (Alemi et al. 2013). Hier is overigens een interessante link te maken met de literatuur over mechanotransductie, waarbij via integrinen de mechanische deformatie van het bindweefsel waarin cellen liggen ingebed, via transmembraan eiwitcomplexen (waaronder integrinen en costameer complexen), leidt tot veranderde eiwitstofwisseling (Sun et al. 2016). De resultaten van Alemi et al. (2013) zijn consistent met de bevindingen van Yano et al. (2015) dat metaboliëten van de spore-forming microben de concentraties van 5-HT in EC cellen beïnvloeden en dat kolonisatie door deze microben de motiliteit van de TGI bevordert in vivo.

De concentratie van deoxycholaat wordt met name beïnvloedt door spore-forming microben, die voor het grootste gedeelte bestaan uit *Clostridia* bacteriën. In deze bacterie soort is in het bijzonder de activiteit van een bepaald enzym (7 α -dehydroxylase) erg hoog, wat nodig blijkt voor de vorming van deoxycholaat uit cholaat (Kitahara et al. 2001, Narushima et al. 2006). Volgens Sayin et al. (2013) is de concentratie deoxycholaat aanzienlijk hoger in het colon dan in het intestinum. Bovendien hebben Sekirov et al. (2010) gepostuleerd dat de hoeveelheid microben en de biodiversiteit ook groter is in het colon dan in het intestinum. Gecombineerd zouden deze bevindingen een verklaring kunnen geven voor de gevonden regionale verschillen in de microbe-gecontroleerde productie van 5-HT in EC cellen in het colon.

Kolonisatie met spore-forming microben of met menselijke spore-forming microben leidt tot een verhoging van de metaboliëten α -tocopherol, tyramine and para-aminobenzoëzuur (PABA) in de feces, wat ook de productie van 5-HT induceert in vitro en in vivo (Yano et al. 2015). α -tocopherol is een vorm van vitamine E die in de natuur veelvuldig voorkomt. Deze stof zou therapeutische effecten hebben voor verschillende ziektes (Brigelius-Flohe & Traber 1999). Omgekeerd is het ook zo dat in depressieve patiënten een verlaagde plasma concentratie van α -tocopherol gevonden wordt (Maes et al. 2000, Owen et al. 2005), wat suggereert α -tocopherol een mogelijk therapeutisch effect zou hebben bij mensen met depressie. Behandeling met α -tocopherol vermindert inderdaad depressieve symptomen in een pre-klinische setting (Lobato et al. 2010) wat een relatie suggereert tussen α -tocopherol en serotonine-gerelateerde ziektes. Tyramine fungeert als een neurotransmitter en zorgt voor het vrijmaken van catecholeamine uit het presynaptische neuron. Tyramine wordt geïmpliceerd in de stimulatie van TGI motiliteit, met name de snelle ileale contracties, en in het vrijmaken van neuropeptide Y (Marcobal et al. 2012). PABA is een intermediaire stof bij de vorming van foliumzuur, en is een essentiële nutriënt voor sommige microben, waarvan enkele zelf PABA kunnen maken (de Crecy-Lagard et al. 2007). Wel is van foliumzuur bekend dat het een belangrijke rol speelt bij de aanmaak van rode bloedcellen, bij de vorming van nucleotiden en bij de ontwikkeling van de hersenen en het ruggenmerg in de foetus. Al is de fysiologische rol van PABA zelf in de darm nog niet bekend, indirect lijkt het erop dat het een belangrijke rol zou kunnen spelen in de vorming van het centrale zenuwstelsel. Maar toekomstige studies zullen uit moeten wijzen of dit inderdaad zo is. In ieder geval lijkt dit indirect het idee van het ENS als “first brain” te ondersteunen.

De grootste hoeveelheid sensorische vezels die de darm mucosa innervieren zijn afkomstig van intrinsieke primaire afferente neuronnen (IPANs) van het ENS (Ekblad et al. 1987, Keast et al. 1984). Deze IPANs lijken daarom belangrijke targets te zijn voor de actie van neuroactieve bacteriën die de darm motiliteit beïnvloeden. Het blijkt zelfs dat de microbiota noodzakelijk zijn voor normale prikkelbaarheid van IPANs (McVey Neufeld et al. 2013). Recente onderzoeken laten zelfs zien dat veranderingen in deze microbiota de concentraties van bepaalde neuroactieve stoffen zoals, stikstofoxide, substance P en endocannabinoïden, die op hun beurt weer invloed hebben op de motorische activiteit van de darm, kunnen reguleren (Quigley 2011). De motiliteit van de TGI kan ook via de microbiota beïnvloedt worden door

immuun reacties in de mucosa (Collins, 1996), waaronder bijvoorbeeld interacties tussen macrofagen en enterische neuronen (Muller et al. 2014). Gedeconjugeerde galzouten blijken ook een effect te hebben op de sensorische en motorische activiteit van de darm (Appleby & Walters 2014). Dit komt overeen met het idee dat de toename in o.a. deoxycholate (een secundair galzuur) concentraties door spore-forming microben bijdraagt aan de hogere concentraties serotonine in het colon en daarmee ook de transit tijd door de darm doet verminderen (Yano et al. 2015).

Naast de belangrijke effecten van 5-HT op cellulaire processen zoals osteoblast differentiatie, erythropoiesis, en immuniteit, blijkt uit experimenten met Tph knockout muizen dat de circulerende concentratie van 5-HT in de moeder belangrijk is voor de ontwikkeling van hersenstructuren in het embryo van Cote et al. (2007). Serotonine afkomstig uit de placenta heeft ook een invloed op de neurale ontwikkeling, met name op het begeleiden van axonen tussen de thalamus en cortex (Bonnin et al. 2011). En het blijkt dat aangeboren microbiota ook de concentratie van serotonine in de hippocampus kunnen moduleren, wat een rol voor de darm microbiota in de regulatie van het serotonergisch systeem van de hersenen suggereert (Clarke et al. 2013).

7.2 Probiotica, voorstanders van een functioneel microbiom

Probiotica worden gedefinieerd als levende micro-organismen waarvan gedacht wordt dat consumptie ervan de gezondheid bevordert (Butel 2014), en er zijn meerdere preklinische en dierstudies die een potentieel gezondheidsvoordeel hebben gerapporteerd bij behandeling en voorkomen van verschillende ziektes. De meest gebruikte probiotica om de samenstelling en diversiteit van het microbiom te bevorderen zijn de melkzuur producerende *Lactobacillus* en *Bifidobacterium* (Sherwin et al. 2016). Van deze bacterie stammen is aangetoond dat zij een positieve invloed kunnen hebben op angststoornissen, stress, en depressie-achtige symptomen, bij dieren en mensen.

Er wordt de laatste tijd steeds meer onderzoek gedaan naar het effect van probiotica op een verstoorde hersen-darmas. Een speciale groep probiotica, psychobiotica genaamd, wordt gebruikt om psychiatrische indicaties te behandelen. Dit gebeurt doordat deze probiotica ervoor zorgen dat psychoactieve stoffen vanuit de darm in de hersenen terecht komen. Het idee is dat deze stoffen gedrag kunnen reguleren wat zou leiden tot een verbeterde communicatie tussen hersenen en darmen. Probiotica lijken een positief effect te hebben op

stress en depressiviteit in dierstudies. En wanneer we kijken naar de eerste studies in mensen waarbij het effect van probiotica op chronische vermoeidheid (een veelvoorkomend syndroom bij mensen met darmontstekingen; Lakhan & Kirchgessner 2010) en prikkelbaar darm syndroom (PDS) zijn de voorlopige resultaten ook veelbelovend te noemen (Rao et al. 2009). Ook uit een studie waarbij gezonde deelnemers dertig dagen lang twee soorten probiotica innamen, bleek dat zij zich minder angstig en depressief voelden (Messauoudi et al. 2011)

Er lijkt dus een toename in bewijs te zijn dat de darmmicrobiota een belangrijke rol spelen in chronisch vermoeidheidssyndroom en fibromyalgie, en de eventuele toepasbaarheid van probiotica als een therapeutische interventie. Om orde in de chaos te scheppen rond de hoeveelheid studies over deze onderwerpen reviewden Roman et al. (2018) de beschikbare literatuur. Zij maakten gebruik van 14 databases (PubMed, Cochrane Library, Scopus, PsycINFO, en anderen) in februari 2016. Een systematische review werd uitgevoerd waarbij gezocht werd naar randomised controlled trials (RCTs) of pilot studies van chronische vermoeidheid of fibromyalgie patiënten, gepubliceerd in de laatste 10 jaar (van 2006 tot 2016). De auteurs maakten gebruik van de Jadad schaal (of Oxford quality scoring system) om de kwaliteit van de klinische trials vast te stellen. Slechts twee studies (uit de 83 gevonden onderzoeken) voldeden aan de inclusie criteria. Beide studies waren uitgevoerd bij chronische vermoeidheid patiënten, en werden geklassificeerd als “high range of quality score”. In deze onderzoeken vertoonden de chronisch vermoeide proefpersonen, na 8 weken lang *Lactobacillus casei strain Shirota* te hebben gekregen, verminderde angst scores. Ook veranderde dit probioticum de faecale samenstelling na deze 8 weken. Bovendien zorgde behandeling met *Bifidobacterium infantis 35624* bij dezelfde patiënten, gedurende dezelfde periode, voor een afname in inflammatoire biomarkers.

Nogmaals, deze studies lijken hoopvol voor probiotica als behandeling bij een scala aan microbiom gerelateerde cognitieve aandoeningen. Echter als we kijken naar de hoeveelheid gepubliceerde studies en het aandeel daarvan dat daadwerkelijk aan strenge methodologische en kwaliteitseisen voldoet, blijkt dat we nog een behoorlijk lange weg te gaan hebben. Dus ook al lieten de bestudeerde stammen probiotica een significant effect zien in de verandering in angst symptomen en inflammatoire processen, is het duidelijk dat ook in dit veld nog veel experimenteel onderzoek gedaan moet worden met bijvoorbeeld een focus op de

verschillende stammen bacteriën en op de symptomen van de bestudeerde ziektebeelden en syndromen.

Inname van *B. infantis* zorgt ook voor een normalisatie van perifere pro-inflammatoire cytokine en tryptofaan concentraties die bij depressie verhoogd zijn (Maes et al. 2012). In een studie van Ringel & Ringel-Kulka (2015) had *B. infantis* een positief effect op abdominale pijn en klachten bij patiënten met IBS, maar in een grote multi-centre trial werden geen effecten gevonden in niet-patiënten (Ringel-Kulka et al. 2017). Een gelijksoortig dubbelblind onderzoek werd uitgevoerd bij 124 patiënten om het effect van 3 weken lang consumeren van een probiotische zuivelmix met *Lactobacillus* op stemming (gemeten met de Profile of Mood States, POMS) en cognitie (geheugen en verbale welbespraaktheid) te bepalen. Het innemen van de probiotische zuivelmix had een positief effect op stemming (vs een placebo) bij degenen waarvan de stemming in eerste instantie al somber was, maar er werden geen effecten op cognitie gevonden (Benton et al. 2007).

Naast de invloed van de darmmicrobiota op angst en depressiviteit, lijkt er ook een link te bestaan met autisme. Er is sprake van een forse toename in het aantal kinderen dat met het label autisme spectrum stoornis (ASS) wordt aangeduid (Nederlands Jeugdinstituut).

Het is erg moeilijk om één oorzaak aan te wijzen voor deze stoornis, maar er zijn inmiddels diverse risicofactoren ontdekt waaronder leeftijd en beroep van de ouders, en zekere genetische predisponerende factoren (Cao et al. 2013). Ook lijken de darmflora een mogelijke risicofactor, omdat een groot aandeel van de kinderen met ASS ook last van gastro-intestinale problematiek hebben, zoals buikkrampen, constipatie, chronische diarree of zelfs inflammatoire darmziekte (inflammatory bowel disease, IBD).

Er is inmiddels aardig wat onderzoek gedaan naar verschillen de samenstelling van het microbioom bij kinderen mét en zonder ASS. Maar overduidelijke verschillen in de aanwezigheid of juist afwezigheid van bepaalde bacterie stammen bij kinderen met ASS zijn vooralsnog moeilijk aan te wijzen. Bovendien lijkt er hierover ook nog eens weinig consensus te zijn in de literatuur (Cao et al. 2013). Dit is niet heel vreemd aangezien het microbioom uniek is voor ieder individu. Bovendien is het ook niet mogelijk ASS goed te categoriseren in maten van ernst en daarbij komt dat het niet voor niets een spectrum genaamd is waarbij vele (sub)vormen van autisme bestaan. Daarom is het niet moeilijk te bedenken dat bepaalde

veranderingen in de microbiota niet bij iedereen met ASS op dezelfde wijze tot uiting hoeven te komen. Ondanks dat verschillende studies er niet in zijn geslaagd om reproduceerbare verschillen in het microbiom bij kinderen met ASS te identificeren (Cao et al. 2013), lijkt het wel zo te zijn dat kinderen met ASS een microbiom hebben dat anders is dan wat men als ‘normaal’ zou bestempelen. De vraag blijft echter of deze divergenties een oorzaak kunnen zijn voor het ontstaan van autisme, of dat het slechts bijeffecten zijn en ze geen relatie tot de ziekte hebben. Met andere woorden, zou het herstellen van de microbiota een effectieve behandeling van ASS kunnen zijn?

Om deze vraag te kunnen beantwoorden onderzochten Hsiao et al. (2013) de relatie tussen de darmmicroben en ASS bij pasgeboren muizen waarbij in de moeder voor de geboorte op chemische wijze een hevige immuunreactie werd uitgelokt. Het lijkt er namelijk op dat bij sommige mensen met ASS een heftige immuunrespons in de moeder in reactie op een infectie tijdens de zwangerschap invloed kan hebben gehad op het uiten van vroege kenmerken van autisme. Bij de genoemde *maternal immune activation* (MIA) muizenbaby's uit de studie van Hsiao et al. bleek er veel sprake te zijn van de kenmerkende gastro-intestinale problematiek en bepaald gedrag dat mensen met ASS ook vertonen. De wand van het intestinum en het colon had bij deze muizen een vergrote permeabiliteit en het microbiom was anders dan ‘gewoon’, en de muizen lieten angstiger en repetitief gedrag zien dan ‘normale’ muizen. Bovendien was de manier van communiceren bij deze muizen anders evenals hun sociale onderlinge gedrag.

Om te zien of het beïnvloeden van de darmflora een positief effect op het uiten van symptomen van ASS zou hebben, kregen de muizen *Bacteroides fragilis*, een darmbacterie die in de mens vaak aanwezig is. De *B. fragilis* stimuleert o.a. de epitheelcellen van de darmwand deze te repareren waardoor de permeabiliteit hersteld wordt. De hypothese was dat door dit herstel van de darmwand er minder stoffen uit de darm zouden ‘lekkende’, wat een invloed zou kunnen hebben op de ASS-achtige symptomen. Het bleek inderdaad zo dat de lekkende darmwand verbeterde in de MIA muizen, en ondanks dat er nog wel duidelijke verschillen aanwezig waren leek het microbiom meer op dat van normale muizen na het geven van *B. fragilis*. Interessanter nog is dat de gedragspatronen van de MIA muizen ook duidelijk veranderd waren, waarbij er sprake was van minder repetitief gedrag en verbeterde communicatie. Alhoewel het sociale gedrag van de MIA muizen niet veranderde na het

krijgen van *B. fragilis*, ondersteunen de bevindingen wel het idee van het bestaan van een darm-hersenas en het mogelijke effect van bepaalde probiotica op sommige gedragsproblemen geassocieerd met autisme.

Een kanttekening die bij bovenstaande studie geplaatst moet worden is wel dat deze resultaten niet bacterie-specifiek waren. Ook *Bacteroides thetaiotamicron* zorgde voor een aanpassing van de autistische symptomatick. Maar de *Enterococcus faecalis* daarentegen had geen effect op de autistische gedragspatronen. Dus wellicht zijn meerdere soorten probiotica of andere bacterie-soorten inzetbaar, afhankelijk van het soort ASS, de unieke darmflora van het individu, en de genetische blauwdruk. Meer studies zullen dit moeten aantonen in de toekomst.

Een van de metaboliëten die door de ‘lekkende’ darm in het bloed gemeten werd (en een 46-voudige toename in plasma levels liet zien) is *4-ethylphenylsulfate* (4EPS). Na het toedienen van de *B. fragilis* nam deze stof in het bloed weer normale waarden aan. Interessant genoeg wordt 4EPS gesuggereerd als urinaire toxine, net als *p-cresol* (4-methylphenol), een chemische metaboliët die structureel en functioneel gerelateerd is aan 4EPS en welke een mogelijke urinaire biomarker is voor autisme (Altieri et al. 2011; Persico and Napolioni 2013). Om deze hypothese te testen injecteerden Hsiao en collega’s (2013) 4EPS in gezonde muizen, wat inderdaad leidde tot autistische gedragskenmerken. Nu zal 4EPS niet de enige belangrijke stof zijn die zulke kenmerken kan uitlokken, maar deze resultaten laten in ieder geval zien dat de doorlaatbaarheid van de darmwand een belangrijke factor kan zijn in het beïnvloeden van gedrag. Dit schetst een mooi voorbeeld van de relatie tussen structuur en functie.

Recent onderzoek heeft aangetoond dat er sprake is van dysfunctionele mitochondriën in verschillende onderzochte weefsels, waaronder immuuncellen, fibroblasten, spiercellen, hersencellen en gastro-intestinale cellen, van kinderen met ASS (Rose et al. 2018). Verschillende factoren zoals toxische stoffen en metaboliëten vanuit het microbiëom lijken de functie van de mitochondriën te moduleren in deze weefsels bij kinderen met ASS.

Interessant is overigens dat onder de verschillende behandelmethodes (met name gericht op psycho-educatie, gedragstherapieën en vaardigheidstrainingen) die genoemd worden door kenniscentrum kinder - en jeugdpsychiatrië (<https://www.kenniscentrum-kjp.nl/professionals/>

autisme/) niet gesproken wordt over deze relatie met de darmen en eventuele behandelingen gericht op het herstellen van de verstoorde hersen-darmas.

Omgekeerd kan de introductie van pathogenen ook een negatieve invloed hebben op gedrag. Zo hebben studies aangetoond dat veranderingen in de hoeveelheid pathogene bacteriën *T. muris*, *C. rodentium*, en *C. jejuni* leidden tot toegenomen angstig gedrag en stress geïnduceerde geheugenstoornissen (Goehler et al. 2008, Lyte et al. 1998, 2006, Bercik et al. 2010). Gelukkig lijkt het erop dat deze stoornissen, en in het bijzonder specifiek niet-ruimtelijk geheugen, verholpen kunnen worden door dagelijkse behandeling van probiotica (Gareau 2011). Ook blijkt dat bovengenoemde bacteriën door stress geïnduceerde inflammatie en infectie pathogene eigenschappen kunnen vertonen. Deze bevindingen zouden deels een verklaring kunnen geven voor de observatie dat patiënten met stress-gerelateerde psychiatrische symptomen vaak pijn in het abdomen aangeven (Reber 2012).

De aangeboren immuunrespons wordt met name gactiveerd door het herkennen van pro-inflammatoire microbe bestanddelen die beter bekend staan als pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Deze PAMPs binden aan pattern recognition receptors (PRRs) op bepaalde immuuncellen die vervolgens het aanmaken van pro-inflammatoire cytokinen stimuleren die op hun beurt weer de hersenen kunnen beïnvloeden. Dit kan op een indirecte manier via de afferente vagale banen, of direct via doorlaatbare regio's van de bloed-breinbarrière (Sherwin et al. 2016). Metabolieten afkomstig van de microbiota kunnen een bijzonder groot effect hebben op hersenfunctie en de immuunrespons. Het is bijvoorbeeld aangetoond dat door de samenstelling van de darmmicroben te manipuleren, de beschikbaarheid en regulatie van vrije vetzuren en tryptofaan (een belangrijke stof voor de vorming van serotonine) verandert.

Vrije vetzuren zijn in de hersenen van belang voor de regulatie van een aantal processen zoals: neuro-transmissie, cel overleving en neuro-inflammatie (Bazinet & Laye 2014). Bovendien zijn vetzuren uit de voeding betrokken bij de productie van eicosanoïden, een groep chemische messenger moleculen die betrokken is bij immuun en inflammatie reacties door middel van het reguleren van gen-expressie, de biosynthese van cytokinen, en de aanpassing van samenstelling en functie van celmembranen (Fritsche 2006). De vetzuren afkomstig uit de verteringsprocessen van microben zelf (korte keten vetzuren, of KKV's)

daarentegen bezitten anti-inflammatoire eigenschappen. Voorbeelden hiervan zijn acetaat, butyraat, isobutyraat, hexonaat, en propionaat, welke de doorlaatbaarheid van de darm kunnen beïnvloeden, het functioneren van het immuunsysteem kunnen bevorderen en de pH van het colon kunnen verlagen (Nicholson et al. 2012). Bovendien spelen de KKV's een bijzondere rol in de enteroendocriene informatiestroom door, na te binden aan specifieke receptoren, het vrijmaken van bepaalde neuropeptiden te promoten. Deze peptiden hebben op hun beurt weer invloed op de energiebalans via enterische signaalpaden en primaire afferente vagale banen (Kuwahara 2014). Deze bevindingen tonen wederom een mogelijk mechanisme via welke de darmmicrobiota gedrag zouden kunnen beïnvloeden.

8. De darm-hersen-as; het neurale deel

8.1 Emotioneel van pro-biotische yoghurt

Veel van de studies naar de hersen-darmas zijn uitgevoerd bij dieren. Hierdoor moeten we voorzichtig zijn met het uitbreiden en vertalen van deze resultaten naar de mens. Ook al moge het duidelijk zijn dat de hersen-darmas ook bij de mens zal bestaan, is het van belang in het achterhoofd te houden dat beide de hersenen en de microbiota van de mens niet dezelfde zijn als die van muizen bijvoorbeeld.

Een belangrijke stap in de richting van onderzoek naar de menselijke hersen-darmas is in 2013 gemaakt door Tillisch en collega's (Tillisch et al. 2013). In een dubbelblind onderzoek aten twaalf vrouwen, niet bekend met gastro-intestinale en psychiatrische symptomen, gedurende een periode van 4 weken tweemaal daags een yoghurt die vier verschillende bacterie soorten bevatte. In een tweede groep werd yoghurt zonder bacteriën ingenomen (placebo groep) en in een derde groep werd geen yoghurt genuttigd (controle groep). Met behulp van functionele magnetic resonance imaging (fMRI) werd een hersenscan gemaakt voor en na de interventie. De scans werden uitgevoerd in rust en tijdens het uitvoeren van een taak waarbij de proefpersonen gezichten moesten herkennen die negatieve emoties uitte zoals boosheid of angst (omdat bij deze oefening een afwijkende hersenactiviteit is waar te nemen bij patiënten die bekend zijn met angststoornissen).

De resultaten lieten duidelijke verschillen zien beide in rust en tijdens de taak tussen vrouwen die wel en geen toegevoegde bacteriën hadden genuttigd. De verschillen in hersenactiviteit waren voornamelijk te zien in een netwerk van gebieden die een functie hebben in het registreren en verwerken van emoties en sensorische informatie. Dit waren met name de prefrontale, frontale en temporale lobi, en het periaqueductale grijze gebied (andere gebieden bevatten de amygdala, basale ganglia en de parahippocampale gyrus). Deze structuren zijn van interesse bij bijvoorbeeld het prikkelbaredarmsyndroom (PDS), pijnperceptie en angststoornissen. Het netwerk van structuren liet een toename in activiteit na de 4 weken zien in de placebo groep, geen verandering in de controle groep, en een afname in de activiteit in de interventie groep die de verschillende soorten bacteriën innam.

Alhoewel er geen significante verschillen zijn gevonden tussen de controle en placebo groepen, suggereren de auteurs dat er wellicht een intermediair effect heeft opgetreden in de

controle groep. Terwijl de aanwezigheid van een placebo effect in de controle groep die ten grondslag zou kunnen liggen aan de geobserveerde veranderingen niet kan worden genegeerd, denken de auteurs dat de betrokken hersengebieden niet diegene zijn die typisch worden geobserveerd in placebo studies (Meissner et al. 2011). Bovendien gaven de proefpersonen niet aan last te hebben van stemmingswisselingen of veranderingen in gastro-intestinale symptomen. Een andere verklaring zou kunnen zijn dat de bestanddelen van de yoghurt zonder toegevoegde bacteriën simpelweg ook een modulatie van het intestinale milieu veroorzaakte wat tot veranderde darm-hersen interactie leidde.

Ook al roept deze studie weer een hoop vragen op (zoals bijvoorbeeld: beïnvloeden de vier probiotische bacteriën de hersenen via een chemische weg of een neurale weg? Zijn er andere probiotische bacteriën die hetzelfde effect hebben, of andere die een ander effect hebben?) en zijn we nog niet in staat deze vragen op een bevredigende manier te beantwoorden, is het tegelijkertijd zo dat deze studie ook weer bijdraagt aan het opstapelende bewijs dat de hersenen en darmen continue met elkaar converseren. Het is geen top-down monoloog zoals lang gedacht werd, maar een dialoog waarvan de inhoud en de vorm van groot belang is voor hoe wij ons voelen.

Gebaseerd op bevindingen uit studies bij knaagdieren zou men kunnen speculeren dat de gevonden veranderingen geïnduceerd zijn door ofwel veranderde afferente vagale signalen naar de nucleus tractus solitarius (NTS) en verbonden hersengebieden via de periaqueductale grijze massa (PAG), ofwel via systemische metabole veranderingen gerelateerd aan de inname van een gefermenteerd melk product met probiotica (FMPP) (McNulty et al. 2011, Sawchenko 1983). Deze veranderingen werden niet geobserveerd bij inname van een niet-gefermenteerd melkproduct met dezelfde smaak, dus de bevindingen lijken gerelateerd te zijn aan de ingenomen bacterie stammen en hun effecten op de gastvrouw. Volgens de auteurs is dit de eerste demonstratie in mensen dat chronische inname van een gefermenteerd melkproduct met probiotica de hersenactiviteit kan moduleren. Naast hun goed gedocumenteerde lokale effecten op het darmepitheel, de immuun functie van de darm, en op het enterisch zenuwstelsel, zijn ook distale effecten van de microbiota op de lever, vetweefsel, en de hersenen gerapporteerd (Bravo et al. 2011, Neufeld et al. 2011, Nicholson et al. 2012, Bercik et al. 2011, Round & Mazmanian 2009, Wells et al. 2011, Mestdagh et al. 2012, Seki & Schnabl 2012).

Uit resultaten van pre-klinische trials lijkt naar voren te komen dat de integriteit van de nervus vagus een rol speelt in sommige, maar niet alle effecten op de hersenen, wat suggereert dat enkele van de darm-hersenas signaal-paden via de afferente vagale vezels en het brede netwerk van hersengebieden die input ontvangen van de NTS verlopen. Er zijn meerdere perifere mechanismen via welke microorganismen uit het lumen informatie kunnen doorgeven aan de gastheer/vrouw, waaronder bijvoorbeeld communicatie met 5-hydroxytryptamine-bevattende enterochromaffine cellen in het darm epithelium en beïnvloeding van immuun cellen in de darm (Rhee et al. 2009). Paracriene signalen van deze epitheliale cellen die zich dicht naast vagale afferenten bevinden zouden kunnen resulteren in activatie en signalering naar de NTS.

Hier zien we dus een mooi voorbeeld van de koppeling tussen het ENS (de enterochromaffine cellen die serotonine produceren als onderdeel van het non-andrenerge non-cholinerge (NANC) systeem en het CNS (de vagale afferenten). Een alternatief is dat probiotica geïnduceerde veranderingen in korte keten vetzuren (KKVs) productie door de darmflora zuur-detecterende receptoren lokaal in het colon zouden kunnen activeren in de epithelium cellen of binnen in de enterische neuronen, óf distaal in de vena porta (Tazoe et al. 2008, Soret et al. 2010). Andere mogelijke mediators van het geobserveerde probiotische effect zijn signaalmoleculen, geproduceerd door de microbiota, onder anderen tryptofaan metabolieten, γ -aminobutyrataanzuur en andere neuro-actieve stoffen (Rhee et al. 2009, Cryan & Dinan 2012).

8.2 Vagale projecties van de darmflora

Vele onderzoeken hebben “bewijs” geleverd voor de effecten van probiotica op de darmfunctie en gevoeligheid van de viscera (Thomas et al. 2012, Preidis et al. 2012). Zo “leidden” bijvoorbeeld verschillende stammen van probiotica tot een afname in nociceptieve viscerale reflexen in knaagdieren en mensen waarbij sprake was van abdominale klachten, alhoewel de onderliggende mechanismen nog niet goed begrepen worden (Rousseaux et al. 2008, Agostini et al. 2012, Dai et al. 2012, Johnson et al. 2011, Eutamene et al. 2007, Guyonnet et al. 2009, Whorwell et al. 2006, McKernan et al. 2010, Waller et al. 2011).

Naast de verschillende voorgestelde perifere mechanismen kunnen ook een verandering in centrale verwerking van interoceptieve signalen, bijvoorbeeld het betrekken van dalende

bulbo-spinale pijn modulatie systemen, of stijgende mono-aminerge modulatie van sensorische hersengebieden, een rol spelen (Bannister et al. 2009, Ossipov et al. 2010). Het is al eerder gesuggereerd dat aanpassingen in zulke endogene pijn modulatie systemen betrokken zijn bij de pathofysiologie van persisterende pijn syndromen, zoals IBS en fibromyalgie (Wilder-Smith 2011, Elsenbruch 2011, Staud 2009).

Zoals al eerder aangegeven is het huidige idee dat er meerdere potentiële communicatie systemen bestaan via welke de darmmicrobiota en probiotica de hersenactiviteit zouden kunnen beïnvloeden, waaronder veranderingen in de messenger stoffen geproduceerd door de microbiota zelf (bijvoorbeeld aminozuur metabolieten, KKV's, en neuroactieve substanties), immunologische mechanismen vanuit de darm mucosa, en vagale activatie gemedieerd door enterochromaffiene cellen (entero-endocriene cellen die het hormoon serotonine afscheiden) (Rhee et al. 2009, Cryan & Dinan 2012, Raybould 2010, Nicholson et al. 2012, McNulty et al. 2011, Hooper et al. 2012).

In studies bij knaagdieren is eerder veranderde afferente vagale activatie richting de NTS gerapporteerd tijdens interventies met intestinale pathogenen en probiotica (Bravo et al. 2011, Goehler et al. 2007, Bercik et al. 2011, Ait-Belgnaoui et al. 2009). Vanuit de NTS verlopen viscerosensorische banen naar de pontine kernen (locus coeruleus, raphe nuclei en parabrachiale nucleus), naar de structuren in de middenhersenen (PAG), gebieden in de voorhersenen (amygdala en hypothalamus), en corticale regio's (insula en cortex cingularis anterior). Bovenstaande illustreert een aannemelijke route voor een stijgend signaalpad van zulke microbiota-geïnduceerde modulatie systemen. Bovendien kunnen stijgende mono-aminerge projecties vanuit de NTS, locus coeruleus en raphe nuclei een grote verscheidenheid aan corticale en limbische hersengebieden moduleren, waardoor zij beide affectieve en sensorische functies kunnen beïnvloeden (Mayer 2000).

Ook al wordt de darm steeds meer erkend als een grote regelaar van motivatie en emoties, de onderliggende relevante chemische en neuronale mechanismen van deze zogenaamde darm-hersenas blijven grotendeels onbekend. De studie van Han et al. (2018) laat zien dat optische activatie van vagale sensorische neuronen in de intestinale wand soortgelijke effecten laat zien als bij directe stimulatie van beloningsneuronen in het brein. Activatie van het rechter, maar specifiek niet het linker, vagale sensorische ganglion hield zelf-stimulatie gedrag in

stand, conditioneerde beide plaats en smaak preferenties, en leidde tot dopamine productie in de substantia nigra. Cel specifieke transneuronaal tracerende onthulde asymmetrische stijgende banen van vagale origine dwars door het CZS. In het bijzonder konden door transneuronaal labelling (door bepaalde structuren te injecteren met een optisch virus) de glutamaat neuronen van het dorsolaterale parabrachiale hersengebied geïdentificeerd worden die de verbindende brug bleken tussen het rechter vagale sensorische ganglion en de dopamine cellen in de substantia nigra. Optische activatie van de parabrachio-nigrale projecties door middel van een laser leidde consistent tot de beloningseffecten van de rechter vagus stimulatie. Deze bevindingen vestigen de vagale darm-hersenas als een integraal onderdeel van het neuronale belonings-signalpad. Ook suggereren deze resultaten een nieuwe manier om via vagale stimulatie affectieve aandoeningen te benaderen.

Het idee dat gastro-intestinale takken van nervus vagus als een zeer belangrijk onderdeel erkend worden van de darm-hersenas is niet nieuw, maar is al sinds eeuwen een gebied van aandacht (Puizillout 2005). Normaliter wordt de functie die toegeschreven is aan de vagale darm afferenten die van een doorgeven van maaltijd gebonden signalen aan de hersenen, uiteindelijk optredend als het voornaamste negatieve feedback mechanisme voor de regulatie van maaltijd grootte (Schwarz 2000). In dit klassieke model werken de vagale afferenten, die gevoelig zijn voor mechanische en chemische prikkels (Precht & Powley 1990, Williams et al. 2006), als een soort rem op het beloningsgevoel van voedsel door het activeren van hun terminale velden in het caudale deel van de hersenstam (Norgren & Smith 1988, Schwartz 2000). Daarentegen worden circulerende hormonen conventioneel als de factoren gezien die de in de darm ontstane belonings-signalen naar de hersenen voeren (Berthoud 2008, Scalfani 2013).

Meer recentelijk echter worden steeds meer neuropsychologische processen toegeschreven aan de vagale kant van het darm-hersenas verhaal. Hieronder vallen onder andere angst, depressie, cognitie, en “reinforcement” (Bohórquez & Liddle 2015, Clemmensen et al. 2017, de Araujo et al. 2012, Mayer 2011, Sharon et al. 2016). Maar nog steeds blijft het exacte neurale circuit dat de gastro-intestinale controle beheert over motivatie en beloning onduidelijk. Een van de redenen is dat voortgang in dit veld van onderzoek behoorlijk gelimiteerd is door de technische moeilijkheden die komen kijken bij het isoleren van vagale afferenten op een orgaan specifieke manier (de Lartigue & Diepenbroek 2016).

Vanwege deze methodologische uitdagingen hebben de auteurs (Han et al. 2018) een nieuwe methode toegepast die gebruik maakt van markers afgegeven door een virus zodat zij de gedragsmatige functies en centrale schakelingen van de sensorische vagale afferenten van de darm konden bepalen. De focus lag met name op het proberen te verwerpen van langgekoesterde stelling dat de sensorische vagale afferente neuronen zorgen voor een inhibitie op het belonings-circuit en daarmee motivatie gedrag zouden onderdrukken (Angyán 1975).

De resultaten van Han et al. (2018) onthullen het bestaan van een neuronale populatie van “belonings-neuronen” tussen de sensorische cellen van de rechter nervus vagus. Formeel gezien functioneren deze sensorische cellen op dezelfde manier en dus onder dezelfde voorwaarden en binnen dezelfde grenzen die toegewezen worden aan belonings-neuronen van het CZS (Olds 1976, Schultz 2015). Het lijkt erop dat neuronen van het rechter ganglion nodosum (R-NG) perifere sensorische cellen linken aan de al eerder in kaart gebrachte populaties van belonings-neuronen in de hersenen (Crow 1973, Olds 1976, Schultz 2015). Meer specifiek gezegd impliceren de bovengenoemde bevindingen dat “reinforcement” door voedsel en verzadiging niet wederzijds exclusieve fysiologische processen zijn. De auteurs denken ook dat hun resultaten het fenomeen van intracraniale zelfstimulatie verzoenen met de eerste ideeën over beloningen als remmers van “drive” (Hull 1943).

Het is consistent gebleken dat het activeren van de AgRP-positieve “drive” neuronen (het agouti-related peptide (AgRP) is een neuropeptide dat geproduceerd wordt in de nucleus arcuatus van de hypothalamus) het door het parabrachium gemedieerde verzadigingsgevoel tegengaat (Campos et al. 2016). Interessant genoeg laten meer recent resultaten uit studies van Beutler et al. (2017) en Su et al. (2017) zien dat het stimuleren van de darm-hersenas door middel van nutriënten de neuronale activiteit van Ag-RP onderdrukt, wat de hypothese naar voren schuift dat verzadigings- en/of belonings-signalen via de nervus vagus de “drive” vanuit Ag-RP cellen inhiberen. Hieraan gerelateerd moet wel gezegd worden dat een aparte groep NG neuronen al eerder geassocieerd zijn met verschillende functies die te maken hebben met voeding in het algemeen (Altschuler et al. 1989, Shapiro & Miselis 1985), waaronder chemosensorische en mechanosensorische signaalpaden (Williams et al. 2016).

Deze uitkomsten leiden weer tot de hypothese dat de neuronen van het R-NG die beloning mediëren mogelijk vooral gevoelig zouden zijn voor “voedings”-signalen, terwijl de neuronen van het linker ganglion nodosum (L-NG) die voornamelijk met verzadiging te maken hebben (onafhankelijk van beloning) met name zouden reageren op mechanische uitzetting of “rek”. Deze mogelijkheid wordt gesuggereerd door de opvallende specificiteit waarmee de R-NG de effecten van cholecystokinine (CCK) op de eetlust controleert. De auteurs vonden dan ook steeds dat de R-NG polysynaptisch gelinkt is aan het vrijmaken van dopamine uit het dorsale striatum.

Over het algemeen genomen onthulden bovenstaande data een ascenderend signaalpad met zijn oorsprong in de darm dat de R-NG, de parabrachio-nigrale schakeling en zijn einddoelen in het dorsale striatum omvat, waarbij elke schakeling noodzakelijk werd geacht voor de effecten van CCK op eetlust. De divergente selectiviteit van stimuli in de L-NG en R-NG zou de asymmetrie in de centrale vagale signaalpaden kunnen verklaren. Zoals genoemd vonden de auteurs een dorsolateraal parabrachio-nigraal signaalpad welke noodzakelijk blijkt voor de expressie van beloning-gedreven gedrag dat gemedieerd wordt door vagale afferenten vanuit de darm. Transsynaptische labelling van de rechter vagale takken toonde dit signaalpad, welke niet alleen reageerde op digestieve hormonen vanuit het intestinum, maar ook belonings-gedrag induceerde als deze gestimuleerd werd (door middel van de laser).

De tiende hersenzenuw, oftewel de nervus vagus is belangrijk in het overdragen van efferente en afferente informatie tussen de periferie en het centrale zenuwstelsel en staat bekend als een directe link tussen de darm en de hersenen (Moriss 2013). Meerdere onderzoeken hebben aangetoond dat de communicatie van de darmmicroben met het centrale zenuwstelsel gemedieerd kan worden via de afferente wegen van de vagus (Goehler et al. 2008, Lyte et al. 2006). Vagotomie studies, waarbij de connectie met de nervus vagus is doorgehaald (mechanisch of chemisch), ondersteunen de mogelijkheid van een rol van vagale afferente banen in het doorgeven van immuun signalen uit de darm naar het CNS (Wang et al., 2002).

Stimulatie van de cervicale vagus is een geaccepteerde behandelmethode voor persisterende depressie (Carreno & Frazer et al. 2017). Interessant genoeg wordt de stimulator normaal gesproken aan de linkerzijde ingeplant. Dit gebeurt met name om de kans op cardiale complicaties door te voorkomen die zouden kunnen optreden met plaatsing van een elektrisch

exciterend apparaat aan de rechterzijde (Howland 2014). De resultaten van Han et al. (2018) suggereren echter dat de positieve affectieve stemmingen effectiever bereikt kunnen worden door het stimuleren van de rechter nervus vagus.

Dit heeft weer mogelijke implicaties voor de effecten van een osteopathische behandeling waarbij de mobiliteit van structuren de uiteindelijke functie waarborgt. De osteopaat kan niet direct een nervus vagus stimuleren, maar kan er wel voor zorgen dat alle structuren die bijdragen aan het uitoefenen van de functies daartoe de mogelijkheid krijgen (denk bijvoorbeeld aan de craniale mobiliteit van een aantal suturen, of de mobiliteit in het abdomen waardoor de paracriene en neuroendocriene communicatie tussen het ENS en het CNS zo optimaal mogelijk plaats kan vinden). Een mogelijke manier om cardiale complicaties te voorkomen zou volgens de auteurs zijn de stimulator te plaatsen op een deel van de nervus vagus in de omgeving van de darm. De implicaties uit bovenstaande resultaten zouden wel eens een belangrijke stap kunnen zijn in de richting van het behandelen van depressie. Wederom is het noodzakelijk dat deze fenomenen bij mensen bestudeerd gaan worden waarin stimulatie van de nervus vagus in de darmen gerelateerd wordt aan het vrijkomen van dopamine in het striatum en hoe dit de symptomen van depressie beïnvloedt.

8.3 Het eerste brein

Het enterisch zenuwstelsel (ENS) lijkt in sommige eigenschappen op het centrale zenuwstelsel (CNS) maar in andere weer totaal niet. Men zou het een entiteit op zichzelf kunnen noemen. Het is zelfs zo dat een stuk darm dat verwijderd is uit het abdomen van een dier, en waarvan ook alle connecties met het CNS zijn doorgehaald, de circuits die normaal gesproken de reflexen van het spijsverteringskanaal controleren nog steeds kunnen functioneren (Langley & Magnus 1905, Furness et al. 1995). Verdere studies hebben intrinsieke zenuwbanen ontrafeld die primaire afferente neuronen, interneuronen, en ook verschillende typen motorneuronen bevatten (Furness et al. 2004, Gershon 2005, Spencer et al. 2016). Het lijkt er bovendien op dat de opbouw van de ganglia van het ENS meer lijken op de ganglia van het CNS dan op andere perifere ganglia in het lichaam (Gershon 2005, Gabella 1972). Dit is een van de redenen waarom dit zenuwstelsel het brein in de buik of zelfs het tweede brein is genoemd. Dit suggereert dat hiërarchisch gezien het CNS boven het ENS zou staan. Uit een overzicht van Furness & Stebbing (2017) blijkt echter het tegenovergestelde aannemelijker te zijn.

Als we kijken naar het dierenrijk hebben sponsachtigen waarschijnlijk de meest basale vorm van een spijsverteringsstelsel waar het meest over bekend is (Renard et al. 2013). Zij hebben gaten of ruimtes waarin water dat nutriënten bevat stroomt en ze bezitten geen zenuwstelsel. Het water wordt door deze ruimtes of buizen “geduwd” door de beweging van flagella of choanocyten. Ongeveer 650 miljoen jaar geleden evolueerde een bepaalde vorm van de cnidaria, de *genus Hydra*, een van de eerste diersoorten waarvan vandaag de dag bekend is dat zij een zenuwstelsel bezaten. De *Hydra* leeft in het water en bevat grofweg gezegd een buis met een opening waar dit water naar binnen kan stromen. Deze buis bevat een laag epheliale cellen die als een soort scheidingswand fungeren tussen de voedingsstoffen uit het water in het lumen en de interne weefsels. Het enterische zenuwstelsel van dit diertje bestaat uit honderden neuronen die als een soort gaaswerk de binnenzijde van de wand van de spijsverteringsbuis bekleden, maar vooralsnog is er geen bewijs voor de eerste stadia van het ontwikkelen van hersenen omdat er geen gespecialiseerde samenvoegingen van neurale cellen (ganglia) zijn gevonden (Bullock & Horridge 1965, Sakaguchi et al. 1996, Hansen et al. 2002).

De lichaamswand van de *Hydra* bevat longitudinale en circulaire spiervezels die een nauwe relatie vertonen met het ENS (Grimmelikhuijzen et al. 1982, Shimizu et al. 2004). Vergelijkbaar met de mens, functioneert dit ENS in de cnidaria met behulp van vergelijkbare neurotransmitters, waaronder catecholaminen, 5-HT en verschillende neuropeptiden, die op gespecialiseerde synapsen van verschillende neuronen werken (Westfall et al. 2000, Kass-Simon & Pierobon 2007). *Hydra* blijken ook sensoren te bevatten die de aanwezigheid van nutriënten in het lumen kunnen detecteren. Dit volgt uit onderzoek waarin peristaltische bewegingen alleen uitgelokt worden door water met daarin nutriënten. Wanneer water zonder nutriënten in de lichaamsbuis geplaatst werd vonden deze bewegingen niet plaats, wat tot de hypothese leidt dat het ENS van *Hydra* reageert op de introductie van voedsel door middel van peristaltische motoriek (Shimizu et al. 2004).

Dus het lijkt er op dat, net als in zoogdieren, het ENS van *Hydra* beide sensorische en motorische functies bezit, wat suggereert dat er dus ook sensorische en motorische neuronen

aanwezig moeten zijn gezien deze synaptisch verbonden zijn. Ook lijken er aanwijzingen te zijn voor het kunnen detecteren van de concentratie van aanwezige voedingsstoffen in het lumen omdat na de vertering van voedsel door middel van omgekeerde peristaltische beweging het residu weer naar buiten de lichaamsholte verplaatst wordt.

Ook is de aanwezigheid van een ENS aangetoond in andere ongewervelden, zoals stekelhuidigen (García-Arrarás et al. 2001), eikelwormen (Kaul-Strehlow et al. 2015), koppotigen (Alexandrowicz 1928), buikpotige weekdieren (Ito & Kurokawa 2007, Okamoto & Kurokawa), en ringwormen (Ierusalimsky & Balaban 2006), waarvan sommige lijken op die van gewervelde dieren. Bij insecten is het ENS echter zo opgebouwd dat, anders dan bij andere ongewervelden, de enterische neuronen zich in ganglia en langs vertakkingen van zenuwen aan de oppervlakte van de darmwand bevinden, in plaats van ingebed te zijn in de wand zelf (Nässel et al. 1998, Copenhaver 2007). Net als bij zoogdieren zijn in slakken twee lagen van ganglia, de plexus myentericus en submucosa gevonden (Ábrahám 1940, Martinez-Pereira et al. 2013).

De manier waarop binnen het ENS van ongewervelden gecommuniceerd wordt door middel van neurotransmitters lijkt in sommige opzichten op die bij gewervelden, maar er zijn ook specifieke verschillen te observeren (Martinez-Pereira et al. 2017). In het bijzonder gaat het hier over bepaalde peptides die in ongewervelden wel en in gewervelden niet worden gevonden. Een van de enterische neurotransmitters die in zoogdieren aanwezig is, serotonine, komt ook voor in het enterisch zenuwstelsel van een grote verscheidenheid aan soorten van ongewervelden waaronder de *Hydra*, eikelwormen en insecten (Westfall et al. 2000, Kaul-Strehlow et al. 2015, Klemm et al 1986).

De opbouw en structuur van het ENS binnen de grote verscheidenheid aan soorten van gewervelde dieren is weinig verschillend, ook met betrekking tot de aanwezige neurotransmitters (Olsson & Holmgren 2010, Uyttebroek et al. 2010). We zien hier dus een duidelijke relatie tussen het behouden van een goed werkende structuur-functie relatie, maar blijktbaar is de ontwikkeling van het ENS van ongewervelden met betrekking tot sommige aspecten over een andere evolutionaire as verlopen.

Met betrekking tot het projecteren van efferente banen en het ontvangen van afferente input lijken het ENS en het CNS elkaar te spiegelen. Ook is er sprake van een zeer geavanceerde integratie tussen beide zenuwstelsels. Zo bestaan er in het ENS neuronen waarvan de cellichamen vanuit bepaalde enterische ganglia naar het CNS projecteren. Een voorbeeld hiervan zijn entero-bulbaire neuronen waarvan de cellichamen, die zich in de maag en het eerste deel van het duodenum bevinden, op de caudale hersenstam projecteren (Holst et al. 1997), en neuronen vanuit het rectum die naar het lumbo-sacrale deel van het ruggenmerg projecteren (Doerffler-Melly & Neuhuber 1988, Neuhuber et al. 1993). De cellichamen van de gastro-bulbaire en duodeno-bulbaire neuronen staan bovendien in contact met efferente takken van de nervus vagus vanuit het caudale deel van de hersenstam (Holst et al. 1997).

Hieruit kunnen we aannemen dat er dus reciproke projecties plaatsvinden vanuit het ENS op het CNS en vanuit het CNS op het ENS. Andere bijzondere projecties zijn die van de intestinofugale neuronen (neuronen van het ENS in de darmwand waarvan de axonen schakelen met neuronen in de prevertebrale ganglia) vanuit bijvoorbeeld de trachea, galblaas en pancreas. De axonen van intestinofugale neuronen die op de prevertebrale ganglia projecteren schakelen op neuronen die ook input van het CNS ontvangen (Stebbing & Bornstein 1994). Deze intestinofugale neuronen maken onderdeel uit van het afferente deel van de entero-enterische reflexen via welke een bepaalde regio van het intestinum de inhibitie van een ander (meestal proximaler gelegen) deel van het intestinum inhibeert (Szurszewski et al. 2002, Furness 2006).

Uit onderzoeken waarbij geïsoleerde delen van het intestinum en de bijbehorende sympatische postganglionnaire neuronen werden bestudeerd blijkt dat deze intestino-fugale neuronen gactiveerd worden door uitzetting van de darm, waardoor ze excitatoire synaptische input geven aan sympatische postganglionnaire neuronen (Crowcroft et al. 1971, Szurszewski & Miller 1994). Het blijkt dat de intestino-fugale neuronen zelf direct gevoelig zijn voor mechanische vervorming (uitzetting) en ook indirect geactiveerd kunnen worden door andere enterische neuronen (Szurszewski & Miller 1994, Sharkey et al. 1998, Hibberd et al. 2012). De consensus uit de literatuur lijkt erop te duiden dat de entero-enterische reflexen via de

prevertebrale ganglia vooral met signalen vanuit meer distaal gelegen delen van de tractus digestivus invloed uitoefenen op meer proximaal gelegen delen, waarmee de passage van voedsel van proximaal naar distaal wordt gereguleerd.

Andere relaties tussen de intestino-fugale neuronen en de organen die zij innerveren zoals de pancreas (Kirchgessner & Gershon 1990), galwegen (Padbury et al. 1993, Kennedy & Mawe 1998) en de luchtwegen (Fischer et al. 1998) zijn minder goed onderzocht, maar hebben waarschijnlijk te maken met de coördinatie van deze organen (Furness & Stebbing 2017). De autonome controle van andere organen dan de darm verloopt vooral via de motorische banen van het CNS, die met name de klieren en glad spieweefsel innerveren. De signaalpaden van het CNS naar de tractus digestivus verlopen echter meestal via enterische neuronen (Furness 2016). Bovendien is het zo dat wanneer er sprake is van een aangeboren afwezigheid van enterische neuronen, de extrinsieke innervatie van de darm dan ongeorganiseerd is (Spencer et al. 2008).

Als we bovendien kijken naar de neurotransmitters (waaronder stikstofoxide (Colasanti et al. 2008), 5-HT (Westfall et al. 2000), en oxytocine/vasopressine-achtige peptides (Grimmelikhuijzen et al. 1982, Shimizu et al. 2004)) van de cnidaria, die een ENS maar geen CNS bezitten, zien we dat deze voorkomen in het beide het ENS en CNS van bilateria (waaronder zoogdieren). Daarbij is het zo dat de transcriptie factoren die van belang zijn bij neurogenese en de specificatie van neurale cel typen ook behouden blijven tussen cnidaria en gewervelden (Watanabe et al. 2009). Dit suggereert dat de voorlopers van het ENS van cnidaria en het ENS en CNS afkomstig zouden zijn van overeenkomstige voorouders. Aan de andere kant moet gezegd worden dat een aantal neurotransmitters die sterk aanwezig zijn in het CNS van bestaande zoogdieren, zoals glutamaat, dopamine, GABA en serotonine slechts een kleine rol van betekenis spelen in het ENS (Furness 2012). En in het geval van serotonine bestaat er nog steeds geen consensus over de belangrijkheid van de rol van deze stof in het ENS bij zoogdieren (Gershon 2009, Spencer 2015). Al deze gegevens samen doen suggereren dat het ENS al gevormd zou zijn voordat het onder de invloed van centrale projecties kwam te staan, en we dus zouden kunnen spreken van een “first brain” in plaats van een “second brain”.

9.

Het microbioom en gedrag

9.1 Overleven dankzij een gezond microbioom

Het is geen nieuw idee dat microben het gedrag kunnen sturen. Het is bijvoorbeeld bekend dat pathogenen de ‘geest’ kunnen beïnvloeden. *Treponema pallidum*, de veroorzaker van syfilis bijvoorbeeld, kan in het ruggenmerg en de hersenen van met de bacterie besmette mensen doordringen. Door zich hier te vermenigvuldigen kan *Treponema pallidum* depressiviteit, stemmingsstoornissen en eventueel psychoses veroorzaken. In met het protozoa *Toxoplasma gondii* besmette knaagdieren is aangetoond dat deze hun angst voor katten verliezen. Deze katten op hun beurt eten deze makkelijk te vangen besmette knaagdieren waardoor via de ontlasting van de kat de *Toxoplasma gondii* weer verspreid kan worden (Sonnenburg & Sonnenburg 2015).

Een van de allereerste indicaties dat het microbioom invloed kan uitoefenen op de hersenen en op gedrag is afkomstig van een studie waarin microbeloze muizen (in een steriele luchtbel) werden bestudeerd. In deze studie werd aangetoond dat deze microbeloze muizen een ander karakter vertoonden dan muizen met een normaal microbioom (Neufeld et al. 2011). In vergelijking tot de ‘normale’ muizen namen de microbeloze muizen grotere risico’s en waren eerder geneigd de omgeving te verkennen. Als we dit in evolutionair perspectief kunnen plaatsen dan zouden deze muizen, door bijvoorbeeld meer risico te nemen door het afleggen van grote afstanden door open velden, eerder gespot kunnen worden door roofdieren, wat de overlevingskansen (en dus het door kunnen geven van genen en microben aan volgende generaties) niet ten goede zou komen.

Deze resultaten worden gesterkt door een studie van Diaz Heijtz et al. (2011), waarin deze microbeloze muizen werden gekoloniseerd met darmbacteriën. Na kolonisatie vertoonden deze muizen voorzichtiger en vergelijkbaar gedrag net als de ‘normale’ muizen. Interessant is dat deze nieuwe voorzichtigheid zich alleen uitte wanneer de kolonisatie plaatsvond voordat de muizen volgroeid waren. Hierna kon het onvoorzichtige gedrag niet meer veranderd worden door het toevoegen van antibiotica, wat leidt tot de hypothese dat het onvoorzichtige gedrag slechts omkeerbaar is in een bepaalde kritiek periode (Sonnenburg & Sonnenburg 2015). Als we deze hypothese doortrekken naar de mensheid (wat we natuurlijk niet zomaar mogen doen!), dan kunnen we ons afvragen of er ook in de ontwikkelingsfase van

de mens sprake kan zijn van een invloed van het microbioom op de ontwikkeling van persoonlijkheid en gedrag, wat weer als argument dient tegen de *tabula rasa*-theorie van John Locke (1632-1704) (in: Steven Pinker *The Blank Slate* 2002). Het lijkt voor de hand te liggen dat het microbioom dus de grootste invloed kan uitoefenen vroeg in de ontwikkeling van het individu.

Uit een studie van Gareau et al. (2011) blijkt dat microbeloze muizen niet alleen onvoorzichtiger zijn, maar ook dat zij geheugengerelateerde stoornissen kunnen vertonen. De onderzoekers lieten microbeloze muizen een reeks geheugentests uitvoeren waarvan de resultaten werden vergeleken met die van ‘normale’ muizen die dezelfde tests ondergingen. De eerste test bestond het onderzoeken van een tweetal voorwerpen gedurende een periode van 5 minuten: een kleine, gladde servetring, en een grote, geruite servetring. Daarna werden de voorwerpen verwijderd en na 20 minuten werd de grote geruite servetring weer in de kooi gelegd samen met een onbekend voorwerp, een stervormige koekjesvorm. De hypothese was dat de muizen aan bekende voorwerpen minder aandacht zouden besteden dan aan nieuwe onbekende voorwerpen. Dit was exact het gedrag de ‘normale’ muizen vertoonden, echter de microbeloze muizen besteedden dezelfde hoeveelheid tijd aan beide voorwerpen waardoor de onderzoekers de conclusie trokken dat deze muizen zonder darmmicroben een minder goed geheugen vertoonden.

Nu is het natuurlijk zo dat het (voor nu) niet mogelijk is om deze resultaten in de mens te reproduceren, omdat er (naar mijn weten in ieder geval) geen microbeloze mensen bestaan. Desalniettemin blijkt uit deze studies dat er een duidelijke invloed bestaat van het microbioom op gedrag en geheugen. Een andere interessante implicatie van deze studies is de invloed van de antibiotica op de overlevingskansen van de gastheer/vrouw. En hoewel het microbioom zich beperkt tot het spijsverteringskanaal blijkt dat zijn invloed veel verder reikt en zelfs mogelijk het gedrag van zijn gastheer/vrouw kan beïnvloeden door de chemische stoffen die de darmbacteriën produceren.

9.2 Poeptransplantaties

Ook zien we recentelijk een trend in microbioom- of poep-transplantaties. Bij deze transplantaties kunnen bijvoorbeeld fysieke kenmerken van de donor overgebracht worden op de ontvanger. Wanneer de darmflora van een obese muis in een “magere muis worden

overgebracht, ziet men dat deze magere muis aankomt; andersom beschermt een microbioom van een magere muis andere muizen tegen zwaarder worden. Zoals hierboven genoemd zien we dat microbiota de werking van de hersenen kunnen beïnvloeden. Zou het dan ook zo kunnen zijn dat door het transplanteren van microbiota de gemoedstoestand of persoonlijkheid van de ontvanger gemodificeerd kunnen worden? Als dit zo is zou dit interessante implicaties kunnen hebben voor bijvoorbeeld ziekten zoals depressiviteit. In een onderzoek uit 2011 onderzochten Bercik et al. dit fenomeen. Twee verschillende typen muizen (Balb/c en NIH Swiss) werden bestudeerd, waarbij de Balb/c groep banger gedrag vertoonde dan de NIH Swiss groep die wat meer sociaal en extrovert gedrag vertoonde. De mate van bang of gespannen gedrag en extrovert gedrag werd bepaald door deze muizen op een verhoogd platform te plaatsen en te registreren hoe lang het duurde voordat ze eraf sprongen. Wanneer het langer duurde voordat een muis het platform verliet werd dit gezien als bang of gespannen gedrag, en andersom als de muis extroverter was zou deze het platform sneller verlaten. De Balb/c muizen deden er gemiddeld vierenhalve minuut over om naar beneden te komen en de NIH Swiss slechts enkele seconden.

Na het “verwisselen” van de microbiota bij beide groepen muizen kostte het de “extroverte” NIH Swiss muizen nu meer dan een minuut om het platform te verlaten, en de “angstige” Balb/c muizen een minuut minder dan voor de transplantatie. Hieruit trokken de auteurs de conclusie dat de verwisseling van het microbioom het explorerend gedrag van de Balb/c muizen vergrootte. Bovendien werd in deze muizen een toename van de brain derived neurotropic factor (BDNF) gevonden in de hippocampus en een afname van BDNF in de amygdala. BDNF wordt normaliter in de hippocampus geassocieerd met geheugen en leren, maar recentere resultaten lijken te suggereren dat een toename van BDNF in de hippocampus geassocieerd is met anxiolytisch en verminderd depressief gedrag (Deltheil et al. 2008). De toename in BDNF in de hippocampus is dus consistent met hun socialere gedrag.

Ook de amygdala wordt geassocieerd met geheugen in stemmingsstoornissen; recente ontdekkingen toonden een toename van BDNF expressie tijdens angstconditionering (Rattiner et al. 2004). Ook is de overactivatie van de amygdala geïmpliceerd in depressie en angst (Drevets 2000). Lagere concentraties van BDNF in de amygdala van de Balb/c muizen komen dus overeen met de geobserveerde toename in explorerend gedrag van deze muizen.

Men zou wellicht kunnen denken dat het effect op het gedrag van de Balb/c muizen een leer-effect is. Echter na een wash-out periode van 2 weken bleken deze muizen weer in hun oude gedragspatroon te vervallen, wat aangeeft dat dit fenomeen reversibel is. Hoe de darmbacteriën nu exact de hoeveelheid BDNF in de hersenen beïnvloeden is niet bekend, maar blijkbaar gaan deze biochemische veranderingen gepaard met veranderingen in het gedrag en de gemoedstoestand van de gastheer/vrouw.

9.3 De darmflora, een relatie met lever en nierfunctie?

Microbiota accessible carbohydrates (MACs), ofwel koolhydraten die toegankelijk zijn voor de microbiota, zijn de componenten in voedingsvezels die de darmbacteriën eten. Door het eten van deze MACs produceren de darmbacteriën niet alleen korte keten vetzuren (KKVs), maar ook andere moleculen die via onze bloedsomloop in de rest van het lichaam terecht komen. Deze stoffen kunnen interacteren met de darmneuronen, immuuncellen in het darmweefsel, of via de bloedbaan in de hersenen terecht komen. Mogelijke functies zijn het beïnvloeden van de darmmotiliteit en de immunofunctie. Sommige van deze stoffen die vrijkomen kunnen in grotere concentraties giftig zijn voor het lichaam. Een optimale leverfunctie is hierbij noodzakelijk om ervoor te zorgen dat deze giftige stoffen op een juiste manier worden afgebroken. Nu blijkt dat wanneer dit niet gebeurt, zoals bij leverfalen, cognitieve problemen kunnen ontstaan, beter bekend onder de naam hepatische encefalopathie (Riordan & Williams 2010).

Gangbare behandelingen voor deze aandoening bestaan uit het verminderen van het aantal microbiota in de darm zodat er minder bacteriën zijn die giftige stoffen kunnen produceren. Dit wordt bereikt door het toedienen van middelen zoals lactulose (dat de transit door de darmen versnelt zodat de darmbacteriën en hun stofwisselingsproducten sneller afgevoerd kunnen worden) en rifaximine (een antibioticum dat het aantal darmmicroben doet afnemen). Voordat deze middelen beschikbaar waren, werd het cognitief verminderde functioneren behandeld door middel van een radicalere methode: het verwijderen van een stuk dikke darm en daarmee gelijk de bewoners ofwel de darmmicrobiota (Johnston & Rodgers 1965).

Naast de lever hebben de nieren ook deels de taak deze stofwisselingsproducten van het microbiom te verwijderen. Dit gebeurt door ze af te voeren via de urine (Aronov et al. 2011). Uit deze studie blijkt dat men aan de urine kan zien wat de status is van de darmmicrobiota.

Dit hebben de onderzoekers aangetoond door plasma te vergelijken van hemodialyse patiënten met en zonder colon. De hypothese is dus dat niet alleen bij leverfalen, maar ook bij nierfalen (wanneer de nieren het bloed niet goed kunnen filteren en er veel chemische afvalstoffen in het bloed achterblijven) cognitieve problemen zouden kunnen optreden.

9.4 Depressiviteit

De communicatie tussen de hersenen en de darmen kan het best omschreven worden als een dialoog, het is bidirectioneel. O'Mahony et al. (2011) hebben bijvoorbeeld aangetoond dat het introduceren van stress of depressiviteit bij laboratoriumdieren, door deze te verwijderen van de moeder, de samenstelling van het microbiom kan veranderen. Nu wordt er aangenomen dat stress en depressiviteit iets is dat uit de hersenen voortkomt, maar de vraag is inderdaad of dit werkelijk zo is. Wel blijkt het zo te zijn dat deze veranderingen in de samenstelling van de darmbacteriën door het dier weg te halen van de moeder van blijvende aard zijn totdat het dier volgroeid is (O'Mahony et al. 2009). Ook blijkt er een duidelijk effect op lange termijn van stress op het immuunsysteem, ook al is de stressor enige tijd voorbij, wellicht door een verandering van de darmmicrobiota. Uit een studie van Bailey & Coe (1999) blijkt dat de samenstelling van de darmbacteriën in babyresusaapjes die bij hun moeder zijn weggehaald veranderd is ten opzichte van vóór dat ze gescheiden waren. Daarnaast bleken deze baby aapjes ook vatbaarder voor infecties.

Bovenstaande studies tonen aan dat het functioneren van het immuunsysteem in gevaar komt als er al op zeer jonge leeftijd door stressvolle gebeurtenissen plaats hebben gevonden, dat er een duidelijke relatie bestaat met de samenstelling van de darmmicrobiota, en dat deze zaken elkaar negatief kunnen (blijven) beïnvloeden. Deze relatie met gedrag komt ook naar voren in een studie van Lyte et al. uit 2006, waarin de onderzoekers aantonen dat muizen die met bepaalde darmpathogenen zijn geïnfecteerd angstiger gedrag vertonen dan niet-geïnfecteerde muizen. Het is niet moeilijk in te zien dat hieruit een negatieve spiraal kan ontstaan. Het angstige gedrag kan voor een verandering in darmbacterie samenstelling zorgen, waardoor er bijvoorbeeld een heviger infectie kan ontstaan, wat vervolgens kan leiden tot verergering van de darmontsteking. Deze ontsteking heeft weer een negatieve invloed op de samenstelling van het microbiom, enzovoorts.

9.5 Angst

Angst is bij mensen een van de meest voorkomende psychiatrische aandoeningen, en wordt gedefinieerd als een psychologische staat van zijn die gekenmerkt wordt door bezorgdheid en beklemming (Baxter et al. 2013). En wereldwijd lijden meer dan 350 miljoen mensen aan depressie (Kessler & Bromet 2013). Hoe deze aandoeningen precies tot stand komen is nog steeds niet bekend, maar er zijn inmiddels meerdere neurobiologische mechanismen voorgesteld die een mogelijke oorzaak vormen. Zo zijn bijvoorbeeld verlaagde hoeveelheden van belangrijke neurotransmitters (waaronder serotonine, norepinephrine en dopamine), veranderingen in neuroendocriene signaalpaden en hormoonconcentraties (bijvoorbeeld cortisol), toegenomen hoeveelheden inflammatoire cytokinen (IL-6 onder andere), en verhoogde concentraties circulerende leukocyten als reactie op ziektes en ontstekingen allen gecorreleerd aan angststoornissen en depressie (Sonnenburg & Sonnenburg 2015).

9.6 Stress

Stress speelt hier ook een belangrijke rol in. De voornaamste reacties op stress omvatten niet alleen het hypothalamus-hypofyse-bijnier systeem (HPA-as) en het autonome zenuwstelsel, maar ook hun gecompliceerde interactie met bijvoorbeeld de pro- en anti-inflammatoire onderdelen van het immuunsysteem (McEwen et al. 2015). Fysiologische stress is een onmisbaar onderdeel van het leven. Echter verstoringen in de normaal goed afgestemde respons op stress kunnen grote psychobiologische gevolgen hebben voor de hersenen en gedrag.

Onderzoek uit verschillende wetenschappelijke hoeken heeft aangetoond dat blootstelling aan psychologische stressoren een negatief effect kan hebben op onze natuurlijke verdedigingslinie die onder andere door de microbiota gevormd wordt. Zo toonde Bailey et al. (2011) aan dat bij muizen die blootgesteld werden aan sociale disruptie, stressoren zorgden voor een toename in circulerende cytokinen en een toegenomen immuun activiteit. Bovendien zagen zij dat het microbiom in deze muizen een andere samenstelling had dan die van de muizen in de controle groep. Een andere belangrijke studie van Sudo et al. (2004) liet zien dat de HPA-as in muizen zonder microbiom overdreven heftig reageerde op milde stressoren. Deze overmatige reactie kon deels genormaliseerd worden door kolonisatie van deze muizen met darmmicroben van muizen uit de controle groep, en werd geheel genormaliseerd door kolonisatie met *B. infantis*. Interessant genoeg zagen Sudo et al. (2004) ook een totale

normalisatie van de stress reactie in de nakomelingen van moeders zonder microbioom die vlak voor de geboorte gekoloniseerd werden.

Een voorwaarde voor deze terugkeer naar normaal is wel dat de kolonisatie plaatsvindt voor volwassenheid van de muizen, want kolonisatie bij 9 weken oude muizen had geen effect. Soortgelijke onderzoeken hebben inderdaad de hypothese ondersteund dat er een kritieke “window” van tijd bestaat voor re-kolonisatie en dat dit inderdaad op jonge leeftijd moet gebeuren (Clarke et al. 2013, Diaz Heijtz et al. 2011, Neufeld et al. 2011). Ook interessant in deze zijn de resultaten van een studie naar astma waarin er een ommekeer van symptomatiek werd gevonden nadat astmatische muizen in de eerst 100 levensdagen werden gekoloniseerd met een bepaalde mix van bacteriën (Arrieta et al. 2015).

Wanneer we proberen te achterhalen wat oorzaak en gevolg is in de kwestie van stress en het microbioom lijkt een belangrijke vraag om te stellen de volgende: wat leidt nu tot wat? Heeft er een verandering in het microbioom plaatsgevonden na een stressvolle gebeurtenis, of zorgt een verandering van het microbioom nu juist voor angstig gedrag en depressiviteit? Deze vraag is helaas niet zo eenvoudig te beantwoorden, mede omdat we nog lang niet alles begrijpen van het erg complexe ecosysteem dat in onze darmen huist, en misschien nog wel minder van onze hersenen. We beginnen pas net een idee te krijgen van het concept hersen-darmas, laat staan dat we volledig begrijpen hoe de communicatie tussen deze twee tot stand komt en verloopt.

10. De effecten van osteopathie

10.1 Osteopathie, een dankbaar vak

Het doel van de osteopathie is de zelfregulatie van het lichaam te bevorderen aan de hand van de vijf modellen die ten grondslag liggen aan de relatie tussen structuur en functie (Thomson et al. 2011, Lunghi et al. 2016, Hruby et al. 2017). Deze modellen (biomechanisch, respiratoir/circulatoir, neurologisch, biopsychosociaal, en bioenergetisch) worden in combinatie toegepast om een holistisch raamwerk voor diagnose en behandeling neer te zetten (ICD-10 Clinical Modification 2010). De effectiviteit van osteopathic manipulative treatment (OMT) is al meerdere malen onderzocht bij verschillende klinische aandoeningen, waaronder chronische lage rugpijn (Franke et al. 2014, Licciardone et al. 2016, Task Force on the Low Back Pain Clinical Practice Guidelines 2016) en hoofdpijn (Cerritelli et al. 2017b, D'Ippolito et al. 2017, Tassorelli et al. 2017). Patiënten rapporteren vaak de verlichting van acute en chronische pijn (Cerritelli et al. 2016a, Ruffini et al. 2016), en ook een verkort verblijf in het ziekenhuis en verlaging van zorgkosten is bijvoorbeeld gerapporteerd bij premature baby's (Lanaro et al. 2017).

10.2 Osteopathie en autisme

Autisme is een steeds vaker voorkomende multifactoriële aandoening waarvoor nog geen specifieke behandeling bestaat. Als we kijken naar de kerncijfers van het Nederlands Jeugdinstituut gaat het om ongeveer 40.000 kinderen van 4 tot 12 jaar die momenteel deze aandoening hebben (laatst bijgewerkte cijfers 18 april 2018). Tegenwoordig is de prevalentie hoger dan voorheen, maar dat is deels te wijten aan het feit dat er een verruiming van de diagnostische criteria heeft plaatsgevonden waardoor nu ook Asperger en PDD-NOS in het autismespectrum zijn opgenomen. Bovendien is er sprake van een betere onderkenning en een toegenomen bewustwording van autisme.

De aandoening wordt gekenmerkt door abnormale of verminderde ontwikkeling in reciproke sociale interactie, abnormale of verminderde sociale communicatie, en verminderd sociaal voorstellingsvermogen (Aarons & Gittens 1999, Wing 1998). Meerdere studies hebben geprobeerd een mogelijke relatie te achterhalen tussen autistisch gedrag en gastro-intestinale dysfuncties. Sommige van deze studies suggereren dat het verergeren van autistische symptomen gepaard gaat met ontstekingsreacties in de darm die gemedieerd worden door het

immuunsysteem (Jyonouchi et al. 2005, Reichelt & Knivsberg 2009, Forsythe et al. 2010). De laatste tijd valt het steeds meer op dat een groot aantal kinderen met autisme lijdt aan buikklachten en gastro-intestinale problematiek. Schieve et al. (2012) toonde dit inderdaad aan met een survey uitgevoerd in de Verenigde Staten tussen 2006 en 2010, waaruit bleek dat kinderen met een leerachterstand een grotere prevalentie van klachten en aandoeningen had dan kinderen zonder leerachterstand.

Dat kinderen met autisme inderdaad vaak klachten in de buik hebben werd al eerder waargenomen door Horvath et al. (1999). Hij rapporteerde dat het percentage reflux oesofagitis bij deze kinderen 69% is, chronische gastritis 42% en chronische duodenitis 67%. Nikolov et al. (2009) stelde een relatie tussen het verergeren van gedragssymptomen en gastro-intestinale klachten, met name diarree en constipatie, vast. Ook bleek uit deze studie dat autistische kinderen met gastro-intestinale klachten meer prikkelbaar waren, meer angstig gedrag vertoonden en zich meer sociaal terugtrokken dan autistische kinderen die geen gastro-intestinale symptomen hadden (Nikolov et al. 2009).

Zelfs na een onderzoek uitgevoerd door de Paediatric Gastrointestinal Unit in Boston (Verenigde Staten), werd voorgesteld dat het behandelen van de gastro-intestinale problemen mogelijkwijs kan ondersteunen in het hanteren van de gedragssymptomen bij kinderen met autisme (Buie et al. 2010). De behandelingen voor kinderen met autisme die aangrijpen op de gastro-intestinale problemen, met name reflux en constipatie, bestaan momenteel voornamelijk uit het voorschrijven van medicatie zoals protonpompremmers en laxeremiddelen die beiden op de lange termijn mogelijk schadelijke effecten kunnen hebben (Cote & Howden 2008, Abraham 2012, Gordon et al. 2012).

Er is dus behoefte aan bevredigende, liefst non-invasieve, behandelmethodes die beide de gastro-intestinale symptomen en de gedragsproblematiek kan verbeteren (Furuta et al. 2012), maar dit blijft een uitdaging. De osteopathie zou hier een uitkomst kunnen bieden. De Visceral Osteopathic Technique (VOT) is een osteopathische behandelmethode die wordt toegepast door osteopaten waarmee de abdominale viscerale massa gemobiliseerd kan worden (Barral & Mercier 2006, 2005, 2007, Stone 1999). Er zijn inmiddels meerdere studies waaruit recentelijk de suggestie naar voren komt dat het mobiliseren van de darm kan resulteren in een verbeterde immunologische functie (Carlow et al. 2009, Hodge & Downey 2011, Hodge

et al. 2010). Het blijkt dat VOT resulteert in een toegenomen circulatie in de viscera en een verbeterde peristaltiek, en van deze reacties op VOT wordt verondersteld dat ze de lymfatische circulatie bevorderen waardoor de immunfunctie zou verbeteren (Schander et al. 2008, Huff et al. 2008, Hodge & Downey 2011, Hodge et al. 2010).

In één van deze studies werd de lymfatische circulatie in het mesenterium en ductus thoracicus gemeten in honden, waarbij lymfatische pomptechnieken een positief effect hadden op het lymfatisch systeem (Hodge et al. 2010). Bovendien zijn er ook aanwijzingen dat het masseren van de abdominale massa verlichting van klachten kan geven en de peristaltiek bij constipatie kan verbeteren (Lamas et al. 2009, McClurg & Lowe-Strong 2011). Uit een ander onderzoek waarin osteopathische viscerale behandeling werd toegepast om de viscera van mensen met IBS te mobiliseren, bleek bij 68% van de patiënten verbetering van de klachten op te treden na vijf behandelingen (Hundscheid et al. 2007). De eerste resultaten uit een lopende studie naar de effecten van osteopathie bij IBS die vanuit het College Sutherland is opgestart zijn ook veelbelovend.

Weer andere onderzoeken tonen aan dat peristaltiek verbeterd kan worden door het uitoefenen van druk op het abdomen (Lamas et al. 2009, Ayas et al. 2006, Le Blanc-Louvry et al. 2002). Met betrekking tot beïnvloeden van de gastro-intestinale transitijd lijkt viscerale mobilisatie ook een positief effect te hebben, met een mogelijk positieve invloed op peristaltiek en een vermindering van ontsteking van de darm na een operatie (Chapelle & Bove 2013), en een mogelijk gunstig effect op postoperatieve adhesies (Bove & Chapelle 2012). Al deze onderzoeken zijn prachtig in dat zij gerelateerd zijn aan de osteopathie en in dat zij laten zien dat door middel van technieken die in de osteopathie gehanteerd worden aanpassingen in bepaalde fysiologische eigenschappen plaatsvinden. Een kanttekening moet hier wel geplaatst worden. Deze studies onderbouwen niet het concept van de osteopathie an sich. Zij laten slechts de effectiviteit van technieken zien, die binnen het osteopathisch concept kunnen worden toegepast.

Met betrekking tot de behandeling van kinderen met autisme door middel van osteopathie voerden Bramati-Castellarin et al. (2015) een interessant onderzoek uit. Zij behandelden 48 autistische kinderen (tussen de 3,5 en 8 jaar oud) die last hadden van gastro-intestinale symptomen en verminderde sociale interactie en communicatie vertoonden. De

osteopathische behandelingen duurden een half uur en vonden wekelijks plaats gedurende een periode van 6 weken. Het gebruikte meetinstrument was een aangepaste Autism Research Institute Secretin Outcomes Score form (SOS), waarmee de gastro-intestinale en gedragsmatige parameters bepaald werden, voor, tijdens en na de behandelingen. De resultaten lieten een algehele significante verbetering van de symptomen zien met betrekking tot sociaal gedrag en communicatie. Bovendien was er een algehele verbetering in de gastro-intestinale symptomen. Specifiek waren er verbeteringen te zien in overgeven, verminderde eetlust en oogcontact, na de VOT behandeling.

De resultaten van deze studie zijn veelbelovend en kunnen deels verklaard worden via de in de vorige hoofdstukken beschreven mechanismen die de darm-hersen-as ondersteunen. Toch moeten er flink wat kanttekeningen bij deze studie geplaatst worden. De auteurs gebruikten een single subject design, waarbij er geen gebruik wordt gemaakt van een controle groep of een placebo groep, maar de interventie groep zelf zijn eigen controle groep vormt. De kinderen werden door verschillende centra en specialisten gerekruteerd. Ook was de hoofdonderzoeker zelf de osteopaat die de behandelingen uitvoerde wat niet ideaal is voor de interne validiteit van de studie. Bovendien werden bij elke patiënt dezelfde technieken toegepast, namelijk mobilisatie van de ileo-caecale valvule, van het duodenum, het ligament van Treitz, de pancreas en het sigmoïd, zonder dat er aangegeven werd of deze structuren inderdaad niet mobiel waren om mee te beginnen. De vragenlijsten werden ingevuld door de ouders van de kinderen, dus de uiteindelijke betrouwbaarheid van deze methode valt ook te betwisten.

10.3 Osteopathie in de maag gesplitst

Niet alleen over osteopathie als behandelmethode, maar ook over de effectiviteit van osteopathische technieken zijn meerdere artikelen verschenen. Deze studies hebben onder andere aangetoond dat Osteopathic Manipulative Treatment (OMT) de autonome controle van de hartslag kan beïnvloeden, de beschikbaarheid van immunologische mediators kan bevorderen en de cerebrale doorbloeding kan moduleren (Giles et al. 2013, Hodge 2012, Shi et al. 2011). OMT wordt in de klinische setting toegepast voor de behandeling van gastro-intestinale klachten. Voorbeelden hiervan zijn toepassingen bij gastroparese (Van Raavenswaay et al. 2015) en bij postoperatieve ileus (Crow & Willis 2009) waarbij met OMT

positieve effecten behaald werden in de zin van reduceren van symptoom frequentie, verkorte opname duur van de patiënten, en een verbeterde kwaliteit van leven.

Het gastro-intestinale systeem biedt een uitermate geschikte mogelijkheid voor het toepassen van OMT doordat deze aan kan grijpen op het autonome zenuwstelsel, enterische feedback kan moduleren, en via directe biomechanische effecten op de viscera de mobiliteit hiervan kan bevorderen (Shadiack et al. 2018). Al moet hierbij wel de kanttekening geplaatst worden dat biomechanica op het peritoneum histologisch gezien niet mogelijk is omdat deze uit een enkele laag mesotheelcellen bestaat met een dunne laag bindweefsel eronder. Dus technisch gezien zouden we hier moeten spreken van mobiliserende, glijvlakverbeterende technieken of fluïdieke, circulatoire technieken (persoonlijke communicatie met J. de Block, juni 2019). De maag is evenals de darm rijkelijk geïnnerveerd via intrinsieke (de plexus myentericus van Auerbach tussen de longitudinale en circulaire spiervezels, en de submucosale plexus van Meissner), en extrinsieke banen waarvan de takken van het autonome zenuwstelsel de activiteit van het ENS kunnen moduleren en daarmee dus de maag functie kunnen beïnvloeden (Hansen 2003). Bovendien kunnen mechanische stimuli, zoals het passeren van een voedselbolus door het maag-darm kanaal, en VOT en OMT, de gladde spieren van deze tractus stimuleren om de contractie-amplitude en frequentie te bevorderen.

Met behulp van een techniek die electrogastrografie (EGG) heet kan de gesommeerde activiteit van deze contracties van spieren in de maag gemeten worden (Yin & Chen 2013). Dit is een gelijkende techniek aan electromyografie (EMG) waarmee de activiteit van voornamelijk oppervlakte spieren wordt gemeten in vivo. Deze techniek werd als meetmethode gebruikt in een recente studie van Shadiack et al. (2018) om de invloed van OMT op de activiteit van de maag te bepalen. Zij toonden aan dat OMT inderdaad een effect had op de myoelektrische activiteit van de maag, ook na het drinken van een hoeveelheid water, waarvan de auteurs claimden dat deze de passage van een bolus door de tractus zou simuleren. De auteurs claimen dat deze pre-klinische studie wat steun geeft aan de hypothese dat OMT de maagfunctie in patiënten met post-operatieve ileus of diabetische gastroparese zou kunnen beïnvloeden.

Het effect van OMT op de maagactiviteit kan via verschillende ingangen gewerkt hebben. Zo kan het volgens de auteurs zijn dat het ENS, het autonome zenuwstelsel (door verminderde

activiteit van het orthosympathische of verhoogde activiteit van het parasympathische systeem), of de directe mechanische stimuli verantwoordelijk zijn voor de waargenomen veranderingen. Het is echter lastig de daadwerkelijke bron te achterhalen met de gebruikte meetmethode omdat de gesommeerde potentialen van alle elektrische signalen worden gemeten, en er geen onderscheid gemaakt kan worden in de herkomst van de verschillende signalen. Hiernaast zijn nog enkele andere beperkingen van de studie te noemen. Allereerst is er sprake van een zeer kleine controlegroep van 9 proefpersonen. Er werd gebruik gemaakt van subject-blinded cross-over design, waarbij een tijd controle werd toegepast binnen de interventiegroep. Geen sham behandeling werd uitgevoerd dus een placebo effect kan niet uitgesloten worden (al is die natuurlijk zeker aanwezig geweest). Ook waren de volgorde van de metingen en interventie en tijdcontrole bij de geïncludeerde proefpersonen niet gerandomiseerd, wat een volgorde effect tot gevolg kan hebben gehad. Bovendien werden wederom een gestandaardiseerde set van osteopathische technieken gedurende een van tevoren vastgelegde tijdsduur uitgevoerd.

Bovenstaande resultaten uit de studie van Shadiack et al. (2018) zijn niet bevredigend met betrekking tot het kunnen achterhalen van de oorsprong van de aanpassingen in de veranderde elektrische activiteit van de maag (en dus de activiteit van de innerverende zenuwbanen). Wellicht omdat de relatie tussen structuur en functie niet helemaal duidelijk naar voren komt in het onderzoeksdesign. De benadering van de osteopathie legt immers altijd de nadruk op deze relatie in het lichaam en de manieren waarop deze relatie beïnvloed kan worden door OMT.

Een groot nadeel in de osteopathische literatuur is dat het meeste bewijs voor de effectiviteit van deze manuele geneeswijze met name gevormd wordt door observationele gegevens en feedback van de patiënten (waaronder VAS-scores, ROM veranderingen en andere empirische gegevens) (Anderson & Seniscal 2006, Burns & Wells 2006). Desalniettemin blijft een van de belangrijke conceptuele speerpunten het erkennen van de relatie tussen gezondheid en mobiliteit in breedste zin van het woord. Zo wordt ook erkend dat het autonome zenuwstelsel een belangrijke rol speelt in het reguleren van homeostase en daarmee van groot belang is voor gezondheid.

Er bestaat echter weinig (kwalitatief bruikbare) literatuur die deze link tussen de positieve effecten van OMT en het autonome zenuwstelsel bevestigt. In de afgelopen 4 decennia is er veel ontwikkeling geweest in non-invasieve betrouwbare methoden die informatie over de neurale autonome input naar bijvoorbeeld het hart kunnen weergeven (Maliani et al. 1991, Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology 1996, Sgoifo et al. 2015). Ook is met behulp van hartslag variabiliteit (HRV) de effectiviteit van OMT op de cardiale sympato-vagale balans onderzocht (Henley et al. 2008, Henderson et al. 2010, Giles et al. 2013, Ruffini et al. 2015).

10.4 Osteopathie, autonome balans en HPA-as activatie, twee vliegen in één klap

In een van de onderzoeken hierboven genoemd werd na een hoog cervicale manipulatie een groep van gezonde normo-tensieve deelnemers vergeleken met een groep die een sham-behandeling onderging (Giles et al. 2013). De activiteit van het hart werd gemeten en er werden verschillen gevonden in het vermogens-spectrum van het signaal. Bij de interventie-groep werd een toename gezien in de hoge frequentie (HF) van de spectrale analyse, wat een indicatie geeft van parasympatische modulatie van de hartslag. Ook werd, vergeleken met de sham-groep, een afname in de ratio van lage frequentie (LF) signalen en HF gevonden (LF:HF), wat een sympatovagale balans zou aangeven (Giles et al. 2013). Een manier om sympathische excitatie en bijbehorende vagale inhibitie aan te tonen is de 50 graden headtilt test, waarna er een verplaatsing van de sympatovagale balans naar sympathisch geobserveerd kan worden (Montano et al. 1994). In een studie werd van deze methode gebruik gemaakt om de effecten van OMT, in het bijzonder de cervicale myofasciale release, in rust en na de headtilt te bekijken. De OMT techniek had een duidelijk inhiberend effect op de sympathische prevalentie na de headtilt wat bleek uit een lagere LF:HF ratio, vergeleken met de sham behandeling (Henley et al. 2008). Een andere studie van Ruffini et al. (2015) liet een toename in HF vermogen zien naast een verlaagde LF:HF ratio bij proefpersonen die OMT ondergingen.

Al deze gegevens lijken de hypothese te ondersteunen dat OMT in ieder geval de autonome neurale modulatie van het hart kan beïnvloeden door de parasympathische activiteit te stimuleren en de sympatovagale balans richting vagale prevalentie kan doen verschuiven. Ze ondersteunen ook het idee dat door de parasympathische activatie, OMT een middel kan zijn

voor de preventie van stress-gerelateerde sympathische (over-)activatie van het hart. Het uitvoeren van uitdagende taken waarbij mentale stress komt kijken, blijkt een groot effect te hebben op de autonome regulatie van het hart (Ginty et al. 2017). Er is niet veel informatie over de effecten van OMT op de stress respons die via de hypothalamus-hypofyse-bijnier (HPA) as verloopt.

Een van de weinige studies (Henderson et al. 2010) probeerde dit wel door de effecten van OMT op het adreno-corticale systeem in combinatie met de autonome activiteit van het hart te onderzoeken. Als meting voor sympathische activiteit gebruikten de auteurs de indirecte meting van α -amylase in het speeksel. Als maat voor de parasympathische activiteit namen zij de flow rate van het speeksel, en voor de functie van de HPA-as werden de cortisol levels gemeten in het speeksel. OMT, die hier bestond uit het ritmisch heffen van de ribben, had volgens deze metingen een verlagend effect op de sympathische activiteit, maar had weinig effect op de parasympathische activiteit of de stress respons als gemeten door functioneren van de HPA-as.

Om de autonome reactie van het hart, in combinatie met de activiteit van de HPA-as, onder een toestand van mentale stress te onderzoeken voerden Fornari et al. (2017) een erg interessante studie uit. De auteurs voerden een pilot study uit bij gezonde mannelijke deelnemers, waarin zij de veranderingen in HRV en speeksel cortisol maten voor en na een acute psychosociale stressor (Kirschbaum's Trier Social Stress Test) (Ginty et al. 2017) die direct gevolgd werd door OMT, of door een sham behandeling. Zij vonden dat een enkele OMT sessie zorgde voor een snellere terugkeer van de hartslag naar de rust waarde, evenals er een terugkeer naar sympatovagale balans plaatsvond, na de mentale stressor. Dit ging gepaard met een duidelijke vermindering van parasympathische inhibitie en sympathische activatie, een vermindering van de typische toename in cortisol direct na een mentale uitdaging, en het opheffen van de stress-geïnduceerde day-after reductie in de amplitude van de cortisol awakening response (CAR; de delta waarde die wordt berekend door de cortisol waarde direct na het wakker worden af te trekken van de waarde 30 minuten na wakker worden).

Deze resultaten bevestigen de bevindingen uit bovenstaande studies dat OMT een positieve invloed lijkt te hebben op de autonome regulatie van het hart door het bevorderen van parasympathische activiteit en het verschuiven van de sympatovagale balans richting een

relatieve vagale voorkeur (afname van de LF:HF ratio). De cortisol concentraties uit het speeksel geven aan dat OMT de activatie van de HPA-as, die na een mentale stressor normaliter geobserveerd wordt (Sgoifo et al. 2003), tegenging.

Deze resultaten komen niet overeen met die van een andere studie (Henderson et al. 2010), waarin geen verschil in activatie van de HPA-as gevonden werd na OMT. Er zijn echter twee duidelijke verschillen tussen de studie van Fornari et al. (2017) en die van Henderson et al. (2010). Ten eerste was de osteopathische techniek die toegepast werd anders: craniosacraal versus het heffen van de ribben. Ten tweede was er in de studie van Fornari en collega's sprake van OMT na een mentale stressor, waar OMT bij Henderson et al. werd uitgevoerd in rust.

De resultaten van Fornari et al. (2017) zijn veelbelovend. Niet alleen wordt de gecoördineerde respons tussen OMT én autonome modulatie én HPA-as functie aangetoond, maar ook het snellere herstel van de cardiovasculaire functie en het tegengaan van de adreno-corticale stress respons kan van klinisch belang zijn. Dit vanuit het oogpunt dat een langzame terugkeer van de hartfunctie naar de baseline een verhoogd risico kan geven op cardiovasculaire morbiditeit (Linden et al. 1997). Bovendien wordt langdurige stress, via activatie van de HPA-as gezien als schadelijk voor het cardiovasculaire systeem (Watt et al. 1992, Litchfield et al. 1998, Goldstein & McEwen 2002).

Wat de CAR nu precies aangeeft is nog onduidelijk, maar wel wordt gedacht dat het iets te maken heeft met de functie van de hippocampus (Law et al. 2015). Het idee is dat een toename in cortisol na het wakker worden een positief effect heeft op de het activeren van representaties van het prospectieve geheugen. Hierdoor wordt een persoon in staat gesteld zichzelf te oriënteren in ruimte en tijd, alsook zich voor te bereiden op de mogelijke uitdagingen van de aankomende dag (Law et al. 2015). Naast de bekende rol in lange termijn geheugen is de hippocampus verantwoordelijk voor het creëren van een samenhangende representatie in het CNS van de wereld om ons heen, en voor het verwerken van informatie met betrekking tot ruimte en tijd, relaties en omgevingscues (Fries et al. 2009). Uit een grote verzameling aan epidemiologische data lijkt het dat een verlaagde HRV het risico op algemene morbiditeit en mortaliteit vergroot (Liao et al. 2002).

Een aantal fysiologische systemen, waaronder de regulatie van de bloedsuikerspiegel door insuline, het functioneren van de HPA-as, en een aantal factoren die belangrijk zijn in het bewaken van de homeostase, worden gerelateerd aan het functioneren van de nervus vagus en HRV (Thayer & Lane 2009). Door de ogenschijnlijke mogelijkheid van OMT om invloed uit te oefenen op de nervus vagus en de HRV te reguleren, is het niet ondenkbaar dat de osteopathie een belangrijke rol zou kunnen spelen in het voorkomen of verminderen van stress-gerelateerde somato-psychische aandoeningen.

Ook bij de (pilot)studie van Fornari et al. (2017) zijn weer kanttekeningen te plaatsen. Het onderzoek werd bijvoorbeeld uitgevoerd op een kleine sample van gezonde mannelijke deelnemers, maar het is dan ook een pilotstudie. Dus het zal interessant zijn wat de resultaten bij een grotere groep zijn, en bij patiënten bekend met bepaalde somato-psychische en psychiatrische aandoeningen. Bovendien zou het interessant kunnen zijn om te kijken hoe lang de effecten aanhouden, of dat met meerdere behandelingen (niet alleen OMT of VOT, maar ook algemene osteopathische behandelingen) de positieve effecten onderhouden kunnen worden.

10.5 Osteopathie en cerebrale activatie

Met betrekking tot de effecten van OMT (CV-4 techniek) op hersenactiviteit vonden Miana et al. (2013) dat na een interventie op het cranio-sacrale niveau er een toename plaatsvond in het vermogen van alfa ritme van de cortex, daarmee aantonend dat OMT de oscillatie van de neurale activiteit in de hersenen kan beïnvloeden. Ook bleek er een progressieve afname van de oxygenatie van hersenweefsel na OMT op te treden in de pre-frontale lobi (Shi et al. 2011). Tamburella et al. (2019) voerden onlangs een randomized controlled single blinded onderzoek uit naar de effecten van OMT op de perfusie van de hersenen bij asymptomatische gezonde proefpersonen.

Het mooie van dit onderzoek is dat er gebruik werd gemaakt van daadwerkelijke osteopathische diagnose stelling en behandeling, in plaats van een vooraf bepaalde reeks technieken. De placebogroep kreeg een passieve aanraking van de behandelaar. De onderzoekers vonden een vermindering van cerebrale doorbloeding direct na de OMT interventie, met name in een cluster die bestond uit de linker posterieure cingulate cortex (IPCC) en de superieure pariëtale lobus (SPL) in rust, terwijl de perfusie van de PCC na drie

dagen post-OMT weer significant toenam. De PCC is een belangrijk knooppunt van het centrale autonome netwerk (CAN) (Benarroch 1993), waarin met name de controle plaatsvindt van pre-ganglionnaire sympathische en parasymphatische motorneuronen die in het bijzonder betrokken zijn bij het functioneren van de parasymphatische tak van het autonome zenuwstelsel (Benarroch 1993, Beissner et al. 2013, Kumral et al. 2018). Het CAN is een integraal onderdeel van een intern regulatiesysteem, via welke de hersenen visceromotorische, neuro-endocriene, pijn en gedrags-responsen die noodzakelijk zijn voor overleving, controleert (Benarroch 1993, Hagemann et al. 2013). Het omvat de insula, amygdala, hypothalamus, de periaqueductale grijze massa, het parabrachiale complex, nucleus tractus solitarius en de ventrolaterale medulla (Benarroch et al. 1993). In lijn met deze gegevens zou volgens Tamburella et al. (2019) geopperd kunnen worden dat de verandering in perfusie van de PCC te maken heeft met een verschuiving richting een verhoogde parasymphatische activiteit. Wellicht zou bij symptomatische patiënten een duidelijker beeld ontstaan met betrekking tot het perfusie beeld.

In dit literatuur onderzoek is getracht de relaties tussen de darm, de gut-brain-axis en gedrag te onderzoeken en dit te integreren in relatie tot de osteopathie. Al is dit werk verre van sluitend te noemen, lijkt er toch een duidelijke samenhang te bestaan tussen wat er in de darm gebeurt en hoe dit bij zou kunnen dragen aan ons gedrag. Wat ook helder lijkt is dat deze communicatie tussen darm en hersenen via verschillende kanalen loopt. De darmmicroben via de metabolieten die zij produceren bij het verteren van het voedsel dat zij langs zien komen, de enterochromaffine cellen o.a. via de hormonen en neurotransmitters die zij produceren, de activatie van afferente banen via de nervus vagus die op hun beurt weer via verschillende schakelingen in de hersenen bepaalde gebieden die met affectie en beloning te maken hebben stimuleren. De samenstelling en integriteit van onze darmen (structuur) beïnvloeden duidelijk ons gedrag (functie).

Wat ook naar voren lijkt te komen uit de literatuur is dat alle niveaus die een rol spelen in deze communicatie onlosmakelijk met elkaar verbonden zijn. De hiërarchie van de verschillende systemen in fylogenetische zin komt ook duidelijk naar voren als we kijken naar de verschillende communicatie systemen. Wanneer er bijvoorbeeld een virus wordt geïntroduceerd waardoor er een dysbiose van de darmflora ontstaat zien we dat er een effect op gedrag waargenomen kan worden. En dat beïnvloeding van de darmflora via probiotica ook een verandering in gedrag tot gevolg heeft. Ook door introductie van stressoren en inflammatie zijn er allerlei veranderingen waar te nemen, bijvoorbeeld via activatie van de HPA-as. De stoffen die in de enterochromaffine cellen worden geproduceerd beïnvloeden meerdere lokale of perifere weefsels via metabole, lokale, paracrine en/of neuroendocriene acties, evenals de activatie van afferente neuronen die weer de gastro-intestinale wand innerveren waardoor er een effect op de peristaltiek bestaat.

Daarnaast zien we dat wanneer er een disruptie teweeg wordt gebracht (door chemische of mechanische oorzaak) in de afferente banen van de nervus vagus, de communicatie via het autonome zenuwstelsel naar de hersenen ook spaak loopt. De opbouw en communicatie via de verschillende zenuwstelsels is ook hiërarchisch. Het centrale zenuwstelsel komt in de evolutie pas kijken na de ontwikkeling van een enterisch zenuwstelsel.

Gedrag lijkt door dit alles een product van de homeostatische toestand ons lichaam, met daarin waarschijnlijk een belangrijke rol van onze darmen. Nu is deze thesis geschreven vanuit een oogpunt dat de opbouw van de verschillende communicatie systemen een bepaalde mate van belangrijkheid aangeeft in deze communicatie. De hersenen die al deze informatie die binnenkomt integreert en interpreteert zijn echter dusdanig complex van aard dat het onjuist lijkt de invloed van de hersenen zelf op ons gedrag in deze te negeren. Het zou interessant zijn om beide richtingen, bottom-up en top-down, naast elkaar te leggen en te zien waar overeenkomsten en discrepanties liggen. Ook zou het interessant zijn om te kijken naar de bepaalde circuits in de hersenen die bepaald gedrag in stand zouden kunnen houden en dit te relateren aan veranderingen die in de darmen plaatsvinden, ook met betrekking tot bijvoorbeeld chronische pijn en pijn-gedrag.

In deze thesis is slechts gekeken naar de darmen en de darm-hersen-as. Andere organen zijn nauwelijks aan bod gekomen. In de toekomst is het interessant om deze ook in de discussie mee te nemen om een beter idee te krijgen van communicatie tussen deze organen en de bijdrage hiervan aan ons gedrag.

De invloed van de osteopathie op gedrag is ook aan bod gekomen. Er zijn nog geen duidelijke resultaten naar voren gekomen, met name door methodologische overwegingen en tekortkomingen. Hier valt nog een grote slag te slaan. Maar deze eerste resultaten lijken wel aan te geven dat er plaats is voor de osteopathie bij cognitieve aandoeningen (naast de vele andere toepassingen). Mogelijke toekomstige studies zouden zich kunnen richten op het bepalen van de effecten van osteopathie op de activatie van affectieve hersengebieden (vastgesteld met fMRI) en vergeleken met de toediening van probiotica (naast een placebo groep en een controle groep).

Naast gezonde proefpersonen zou een vergelijking gemaakt kunnen worden met patiënten met bepaalde cognitieve aandoeningen. Bovendien zou dit gerelateerd kunnen worden aan bepaalde stress indicatoren (cortisol) en aanpassingen van het microbioom in de darmen. Ook interessant als studie zou zijn de vergelijking tussen het direct stimuleren van de nervus vagus en het vrijkomen van dopamine in relatie tot depressie met de mate waarin een osteopathische behandeling deze effecten kan bewerkstelligen. Door de steeds snellere technologische ontwikkelingen kunnen we steeds meer meten, ook non-invasief en in de mens, waardoor er

hopelijk in de nabije toekomst nieuwe informatie vrijkomt die ons duidelijkere antwoorden kan geven op deze vragen.

De informatie in dit werk ondersteunt de holistische visie die vanuit het College Sutherland wordt gedragen. Ik ben als bewegingswetenschapper begonnen aan deze opleiding. Ik vond in mijn werk als research fellow binnen de orthopedie al dat er meer moest zijn dan een knie of een heup. De kennis en ervaring in de breedte en in de verdieping die ik de afgelopen zes jaar heb meegekregen is van onschatbare waarde voor mijn ontwikkeling als persoon, osteopaat en als wetenschapper. Dit geldt ook voor de kennis die ik middels het schrijven van dit werk heb opgedaan. De onderbouwing van de vertaalslag van theorie naar praktijk en andersom één die voor mij zie als bijdrage aan het vak. En ik hoop hierin in de toekomst ook een rol te kunnen spelen in het verhalen naar het grotere publiek (medisch of niet).

- Aarons, M., & Gittens, T., (1999). *The Handbook of Autism - a Guide for Parents and Professionals*, second ed., pp. 5-14.
- Ábrahám A. (1940). Die Innervation des Darmkanals der Gastropoden. *Cell Tissue Res.*, *30*, 273-296.
- Abraham, N.S., (2012). Proton pump inhibitors: potential adverse effects. *Curr. Opin. Gastroenterol.* *28*, 615-620.
- Agostini, S., Goubern, M., Tondereau, V., Salvador-Cartier, C., Bezirard, V., Lévèque, M., Keränen, H., Theodorou, V., Bourdu-Naturel, S., Goupil-Feuillerat, N., et al. (2012). A marketed fermented dairy product containing *Bifidobacterium lactis* CNCM I-2494 suppresses gut hypersensitivity and colonic barrier disruption induced by acute stress in rats. *Neurogastroenterol Motil.*, *24*, 376–e172.
- Ait-Belgnaoui, A., Eutamene, H., Houdeau, E., Bueno, L., Fioramonti, J., & Theodorou, V. (2009). *Lactobacillus farciminis* treatment attenuates stress-induced overexpression of Fos protein in spinal and supraspinal sites after colorectal distension in rats. *Neurogastroenterol Motil.*, *21*, 567–573. 18–19.
- Alemi, F., Poole, D.P., Chiu, J., Schoonjans, K., Cattaruzza, F., Grider, J.R., Bunnett, N.W., & Corvera, C.U. (2013). The receptor TGR5 mediates the prokinetic actions of intestinal bile acids and is required for normal defecation in mice. *Gastroenterology*, *144*, 145–154.
- Alexandrowicz, J-S. (1928). Notes sur l'innervation du tube digestif des céphalopodes. *Arch Zool Exp.*, *67*, 69-90.
- Altieri, L., Neri, C., Sacco, R., Curatolo, P., Benvenuto, A., Muratori, F., Santocchi, E., Bravaccio, C., Lenti, C., Saccani, M., et al. (2011). Urinary p-cresol is elevated in small children with severe autism spectrum disorder. *Biomarkers*, *16*, 252–260.
- Altschuler, S.M., Bao, X.M., Bieger, D., Hopkins, D.A., & Miselis, R.R. (1989). Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the rat: sensory ganglia and nuclei of the solitary and spinal trigeminal tracts. *J. Comp. Neurol.*, *283*, 248–268.
- Amireault, P., Sibon, D., & Cote, F. (2013). Life without peripheral serotonin: insights from tryptophan hydroxylase 1 knockout mice reveal the existence of paracrine/autocrine serotonergic networks. *ACS chemical neuroscience*, *4*, 64–71.
- Anderson, R.E., & Seniscal, C. (2006). A comparison of selected osteopathic treatment and relaxation for tension-type headaches. *Headache*, *46(8)*, 1273-1280.
- Angyán, L. (1975). Vagal influences on hypothalamic self-stimulation in the cat. *Life Sci.*, *17*, 289–292.
- Appleby, R.N., & Walters, J.R. (2014). The role of bile acids in functional GI disorders. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, *26*, 1057– 1069.
- Aronov, P.A., Luo, F.J., Plummer, N.S., Quan, Z., Holmes, S., Hostetter, T.H., & Meyer, T.W. (2011). Colonic contribution to uremic solutes. *J Am Soc Nephrol.*, *22(9)*, 1769-76.
- Arrieta, M.C., Stiemsma, L.T., Dimitriu, P.A., Thorson, L., Russell, S., Yurist-Doutsch, S., Kuzeljevic, B., Gold, M.J., Britton, H.M., Lefebvre, et al. (2015). Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci. Transl. Med.* *7*, 307ra152.

- Atarashi, K., Tanoue, T., Oshima, K., Suda, W., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., et al. (2013). Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*, *500*, 232–236.
- Ayas, S., Leblebici, B., Sozay, S., Bayramoglu, M., & Niron, E.A., (2006). The effect of abdominal massage on bowel function in patients with spinal cord injury. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* *85*, 951-955.
- Baganz, N.L., & Blakely, R.D. (2013). A dialogue between the immune system and brain, spoken in the language of serotonin. *ACS chemical neuroscience*, *4*, 48–63.
- 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 Behav. Immun.* *25*, 397–407.
- Bailey, M.T., & Coe, C.L. (1999). Maternal separation disrupts the integrity of the intestinal microflora in infant rhesus monkeys. *Dev Psychobiol.*, *35*(2), 146-55.
- Bannister, K., Bee, L.A., & Dickenson, A.H. (2009). Preclinical and early clinical investigations related to monoaminergic pain modulation. *Neuro-therapeutics*, *6*, 703–712.
- Barral, J., & Mercier, P., (2006). *Visceral Manipulation (Revised Edition)*. Eastland Press.
- Barral, J.P., & Mercier, P., (2007). *Visceral Manipulation II*. Eastland Press, Seattle.
- Barral, J.P., & Mercier, P., (2005). *Visceral Manipulation*. Eastland Press, Seattle.
- Baxter, A.J., Patton, G., Scott, K.M., Degenhardt, L., & Whiteford, H.A. (2013). Global epidemiology of mental disorders: what are we missing? *PLoS One* *8*, e65514.
- Bazinet, R.P., & Laye, S., (2014). Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. *Nat. Rev. Neurosci.*, *15*, 771–785.
- Beissner, F., Meissner, K., Bar, K.J., & Napadow, V. (2013). The autonomic brain: an activation likelihood estimation meta-analysis for central processing of autonomic function. *J. Neurosci.* *33*, 10503–10511.
- Benarroch, E. E. (1993). The central autonomic network: functional organization, dysfunction, and perspective. *Mayo Clin. Proc.* *68*, 988–1001.
- Benton, D., Williams, C., Brown, A., (2007). Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur. J. Clin. Nutr.* *61*, 355–361.
- Bercik, P., Denou, E., Collins, J., Jackson, W., Lu, J., Jury, J., Deng, Y., Blennerhassett, P., Macri, J., McCoy, K.D., et al. (2011a). The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology* *141*, 599–609. e1–3.
- Bercik, P., Park, A.J., Sinclair, D., Khoshdel, A., Lu, J., Huang, X., Deng, Y., Blennerhassett, P.A., Fahnstock, M., Moine, D., et al., (2011b). The anxiolytic effect of Bifido-bacterium longum NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterol Motil.*, *23*, 1132– 1139.
- Bercik, P., Verdu, E.F., Foster, J.A., Macri, J., Potter, M., Huang, X., Malinowski, P., Jackson, W., Blennerhassett, P., Neufeld, et al., (2010). Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice. *Gastroenterology*, *139*, 2102-2112.
- Bermon, S., Petriz, B., Kajeniene, A., Prestes, J., Castell, L., & Franco, O.L. (2015). The microbiota: an exercise immunology perspective. *Exerc. Immunol. Rev.* *21*, 70– 79.

- Berthoud, H.R. (2008). Vagal and hormonal gut-brain communication: from satiation to satisfaction. *Neurogastroenterol. Motil.*, 20 (Suppl 1), 64–72.
- Beutler, L.R., Chen, Y., Ahn, J.S., Lin, Y.C., Essner, R.A., & Knight, Z.A. (2017). Dynamics of gut-brain communication underlying hunger. *Neuron*, 96, 461–475.
- Boho ´rquez, D.V., & Liddle, R.A. (2015). The gut connectome: making sense of what you eat. *J. Clin. Invest.*, 125, 888–890.
- Bonnin, A., Goeden, N., Chen, K., Wilson, M.L., King, J., Shih, J.C., Blakely, R.D., Deneris, E.S., & Levitt, P. (2011). A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain. *Nature*, 472, 347–350.
- Bove, G.M., & Chapelle, S.L., (2012). Visceral mobilization can lyse and prevent peritoneal adhesions in a rat model. *J. Bodyw. Mov. Ther.* 16, 76-82.
- Bramati-Castellarin, I., Patel, V.B., & Drysdale, I.P. (2016). Repeat-measures longitudinal study evaluating behavioural and gastrointestinal symptoms in children with autism before, during and after visceral osteopathic technique (VOT). *J Bodyw Mov Ther.*, 20(3), 461-70.
- 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. *PNAS.*, 108, 16050–16055.
- Brigelius-Flohe, R., & Traber, M.G. (1999). Vitamin E: function and metabolism. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 13, 1145–1155.
- Buie, T., Campbell, D.B., Fuchs, G.J., Furuta, G.T., Levy, J., Vandewater, J., Whitaker, A.H., Atkins, D., Bauman, M.L., Beaudet, A.L., et al. (2010). Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report. *Pediatrics* 1 (125 Suppl.), S1-S18.
- Bullock, T.H., & Horridge, G.A. (1965). *Structure and Function in the Nervous Systems of Invertebrates*. San Francisco and London: W. H. Freeman & Co.
- Burns, D.K., & Wells, M.R. (2006). Gross range of motion in the cervical spine: the effects of osteopathic muscle energy technique in asymptomatic subjects. *J Am Osteopath Assoc.*, 106(3), 137-142.
- Butel, M.J., (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Med. Mal. Infect.*, 44, 1–8.
- Campos, C.A., Bowen, A.J., Schwartz, M.W., & Palmiter, R.D. (2016). Parabrachial CGRP neurons control meal termination. *Cell Metab.*, 23, 811–820.
- Cao, X., Lin, P., Jiang, P., & Li, C. (2013). Characteristics of the gastrointestinal microbiome in children with autism spectrum disorder: a systematic review. *Shanghai Arch Psychiatry*, 25(6), 342-53.
- Carlow, D.A., Gold, M.R., & Ziltener, H.J., (2009). Lymphocytes in the peritoneum home to the omentum and are activated by resident dendritic cells. *J. Immunol.* 183, 1155-1165.
- Carreno, F.R., and Frazer, A. (2017). Vagal nerve stimulation for treatment-resistant depression. *Neurotherapeutics*, 14, 716–727.
- Cerritelli, F., Ruffini, N., Lacorte, E., & Vanacore, N. (2016). Osteopathic manipulative treatment in neurological diseases: systematic review of the literature. *J. Neurol. Sci.* 369, 333–341.

- Cerritelli, F., Lacorte, E., Ruffini, N., & Vanacore, N. (2017). Osteopathy for primary headache patients: a systematic review. *J. Pain Res.* *10*, 601–611.
- Chabbi-Achengli, Y., Coudert, A.E., Callebert, J., Geoffroy, V., Cote, F., Collet, C., & de Vernejoul, M.C. (2012). Decreased osteoclastogenesis in serotonin-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*, 2567–2572.
- Chapelle, S.L., & Bove, G.M., (2013). Visceral massage reduces postoperative ileus in a rat model. *J. Bodyw. Mov. Ther.* *17*, 83-88.
- Clarke, G., Grenham, S., Scully, P., Fitzgerald, P., Moloney, R.D., Shanahan, F., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2013). The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol. Psychiatry* *18*, 666–673.
- Clemmensen, C., Müller, T.D., Woods, S.C., Berthoud, H.R., Seeley, R.J., & Tschöp, M.H. (2017). Gut-brain cross-talk in metabolic control. *Cell*, *168*, 758–774.
- Colasanti, M., Venturini, G., Merante, A., Musci, G., & Lauro, G.M. (1997). Nitric oxide involvement in *Hydra vulgaris* very primitive olfactory- like system. *J Neurosci.*, *17*, 493-499.
- Collins, S.M. (1996). The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology*, *111*, 1683–1699.
- Copenhaver, P.F. (2007). How to innervate a simple gut: familiar themes and unique aspects in the formation of the insect enteric nervous system. *Dev Dyn.*, *236*, 1841-1864.
- Cote, F., Fligny, C., Bayard, E., Launay, J.M., Gershon, M.D., Mallet, J., & Vodjdani, G. (2007). Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*, 329–334.
- Cote, F., Thevenot, E., Fligny, C., Fromes, Y., Darmon, M., Ripoche, M.A., Bayard, E., Hanoun, N., Saurini, F., Lechat, P., et al. (2003). Disruption of the nonneuronal *tph1* gene demonstrates the importance of peripheral serotonin in cardiac function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*, 13525–13530.
- Cote, G.A., & Howden, C.W., (2008). Potential adverse effects of proton pump inhibitors. *Curr. Gastroenterol. Rep.* *10*, 208-214.
- Crow, T.J. (1973). Catecholamine-containing neurones and electrical selfstimulation. 2. A theoretical interpretation and some psychiatric implications. *Psychol. Med.*, *3*, 66–73.
- Crow, W.T., & Willis, D.R. (2009). Estimating cost of care for patients with acute low back pain: A retrospective review of patient records. *J Am Osteopath Assoc*, *109*, 229–233.
- Crowcroft, P.J., Holman, M.E., & Szurszewski, J.H. (1971). Excitatory input from the distal colon to the inferior mesenteric ganglion in the guinea-pig. *J Physiol (Lond)*, *219*, 443-461.
- Cryan, J.F., & Dinan, T.G. (2012). Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* *13*, 701–712.
- D'Ippolito, M., Tramontano, M., & Buzzi, M. G. (2017). Effects of osteopathic manipulative therapy on pain and mood disorders in patients with highfrequency migraine. *J. Am. Osteopath. Assoc.* *117*, 365–369.
- Dai, C., Guandalini, S., Zhao, D.H., & Jiang, M. (2012). Antinociceptive effect of VSL#3 on visceral hypersensitivity in a rat model of irritable bowel syndrome: a possible action through nitric oxide pathway and enhance barrier function. *Mol Cell Biochem.*, *362*, 43–53.

de Block, J., persoonlijke communicatie (mei 2019). Bron: Syllabus *Fysiologie: Orgaanfysiologie Inleiding TGI*. Kolenberg, J. (2011).

de Block, J., persoonlijke communicatie (juni 2019). Girardin, M. (Gepubliceerd op 2019 M05 62019 M05 6). Visceral Surgery & Osteopathy [Online forum bericht]. Bericht geplaatst op <file:///Users/jeroendeblock/Desktop/Literatuur%20Visceraal/VISCERAL%20SURGERY%20&%20OSTEOPATHY.webarchive>

de Crecy-Lagard, V., El Yacoubi, B., de la Garza, R.D., Noiriël, A., & Hanson, A.D. (2007). Comparative genomics of bacterial and plant folate synthesis and salvage: predictions and validations. *BMC genomics*, 8, 245.

de Lartigue, G., & Diepenbroek, C. (2016). Novel developments in vagal afferent nutrient sensing and its role in energy homeostasis. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 31, 38–43.

deAraujo, I.E., Ferreira, J.G., Tellez, L.A., Ren, X., & Yeckel, C.W. (2012). The gut-brain dopamine axis: a regulatory system for caloric intake. *Physiol. Behav.*, 106, 394–399.

Deltheil, T., Guiard, B.P., Cerdan, J., David, D.J., Tanaka, K.F., Repérant, C., Guilloux, J.P., Coudoré, F., Hen, R., & Gardier, A.M. (2008). Behavioral and serotonergic consequences of decreasing or increasing hippocampus brain-derived neurotrophic factor protein levels in mice. *Neuropharmacology*, 55(6), 1006-14.

Diaz Heijtz, R., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Bjorkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M.L., Forsberg, H., & Pettersson, S., (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 3047–3052.

Doerfler-Melly, J., & Neuhuber, W.L. (1988). Rectospinal neurons: evidence for a direct projection from the enteric to the central nervous system in the rat. *Neurosci Lett.*, 92, 121-125.

Drevets, W.C. (2000). Neuroimaging studies of mood disorders. *Biol Psychiatry*, 48, 813–829.

Ducy, P., & Karsenty, G. (2010). The two faces of serotonin in bone biology. *The Journal of cell biology*, 191, 7–13.

Ekblad, E., Winther, C., Ekman, R., Håkanson, R., & Sundler, F. (1987). Projections of peptide-containing neurons in rat small intestine. *Neuroscience*, 20(1), 169-88.

Elsenbruch, S. (2011). Abdominal pain in irritable bowel syndrome: a review of putative psychological, neural and neuro-immune mechanisms. *Brain Behav Immun.*, 25, 386–394.

Eutamene, H., Lamine, F., Chabo, C., Theodorou, V., Rochat, F., Bergonzelli, G.E., Corthésy-Theulaz, I., Fioramonti, J., & Bueno, L. (2007). Synergy between Lacto-bacillus paracasei and its bacterial products to counteract stress-induced gut permeability and sensitivity increase in rats. *J Nutr.*, 137, 1901–1907.

Fischer, A., Canning, B.J., Udem, B.J., & Kummer, W. (1998). Evidence for an esophageal origin of VIP- IR and NO synthase- IR nerves innervating the guinea pig trachealis: a retrograde neuronal tracing and immunohistochemical analysis. *J Comp Neurol.*, 394, 326-334.

Forsythe, P., Sudo, N., Dinan, T., Taylor, V.H., & Bienenstock, J., (2010). Mood and gut feelings. *Brain Behav. Immun.* 24, 9-16.

Foster, J.A., & McVey Neufeld, K.A. (2013). Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci.* 36, 305–312.

Franke, H., Franke, J.D., & Fryer, G. (2014). Osteopathic manipulative treatment for nonspecific low back pain: a systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskelet. Disord.* 15, 286.

- Fries, E., Dettenborn, L., & Kirschbaum, C. (2009). The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *Int J Psychophysiol.*, 72(1), 67-73.
- Fritsche, K., (2006). Fatty acids as modulators of the immune response. *Annu. Rev. Nutr.*, 26, 45–73.
- Furness, J.B. (2006). *The Enteric Nervous System*. Oxford: Blackwell.
- Furness, J.B., Jones, C., Nurgali, K., & Clerc, N. (2004). Intrinsic primary afferent neurons and nerve circuits within the intestine. *Prog Neurobiol.*, 72, 143-164.
- Furness, J.B., Johnson, P.J., Pompolo S., & Bornstein J.C. (1995). Evidence that enteric motility reflexes can be initiated through entirely intrinsic mechanisms in the guinea-pig small intestine. *Neurogastroenterol Motil.*, 7, 89-96.
- Furuta, G.T., Williams, K., Kooros, K., Kaul, A., Panzer, R., Coury, D.L., & Fuchs, G., (2012). Management of constipation in children and adolescents with autism spectrum disorders. *Pediatrics 130 (Suppl 2)*, S98-S105.
- Gabella, G. (1972). Fine structure of the myenteric plexus in the guinea-pig ileum. *J Anat.*, 111(Pt 1), 69-97.
- García-Arrarás, J.E., Rojas-Soto, M., Jiménez, L.B., & Díaz-Miranda, L. (2001). The enteric nervous system of echinoderms: unexpected complexity revealed by neurochemical analysis. *J Exp Biol.*, 204, 865-873.
- Gareau, M.G., (2011). Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 60, 307–317.
- Gareau, M.G., Wine, E., Rodrigues, D.M., Cho, J.H., Whary, M.T., Philpott, D.J., Macqueen, G., & Sherman, P.M. (2011). Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 60(3), 307-17.
- Gershon, M.D. (2005). Nerves, reflexes, and the enteric nervous system: pathogenesis of the irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol.*, 39(5 Suppl 3), S184-93.
- Gershon, M.D. (2009). Enteric serotonergic neurones ...finally!. *J Physiol (Lond).*, 587, 507.
- Gershon, M.D., & Tack, J. (2007). The serotonin signaling system: from basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology 132*, 397–414.
- Giles, P.D., Hensel, K.L., Pacchia, C.F., & Smith, M.L. (2013). Suboccipital decompression enhances heart rate variability indices of cardiac control in healthy subjects. *J Altern Complement Med*, 19, 92–96.
- Ginty, A.T., Kravak, T.E., Fisher, J.P., & Gianaros, P.J. (2017). Cardiovascular and autonomic reactivity to psychological stress: neurophysiological substrates and links to cardiovascular disease. *Auton Neurosci.*, pii:S1566-0702(17), 30069-3.
- Goehler, L.E., Lyte, M., & Gaykema, R.P. (2007). Infection-induced viscerosensory signals from the gut enhance anxiety: implications for psychoneuroimmunology. *Brain Behav Immun.*, 21, 721–726.
- Goehler, L.E., Park, S.M., Opitz, N., Lyte, M., & Gaykema, R.P., (2008). Campylobacter jejuni infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. *Brain Behav. Immun.*, 22, 354–366.

- Goldstein, D.S., & McEwen, B. (2002). Allostasis, homeostats, and the nature of stress. *Stress*, 5(1), 55-58.
- Gordon, M., Naidoo, K., Akobeng, A.K., & Thomas, A.G., (2012). Osmotic and stimulant laxatives for the management of childhood constipation. *Cochrane Database Syst. Rev.* 7, CD009118.
- Grimmelikhuijzen, C.J.P., Dierickx, K., & Boer, G.J. (1982). Oxytocin/vasopressin-like immunoreactivity is present in the nervous system of hydra. *Neuroscience.*, 7, 3191-3199.
- Guyonnet, D., Woodcock, A., Stefani, B., Trevisan, C., & Hall, C. (2009). Fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173 010 improved self-reported digestive comfort amongst a general population of adults. A randomized, open-label, controlled, pilot study. *J Digest Dis.*, 10, 61-70.
- Hagemann, D., Waldstein, S. R., & Thayer, J. F. (2003). Central and autonomic nervous system integration in emotion. *Brain Cogn.* 52, 79-87.
- Han, W., Tellez, L.A., Perkins, M.H., Perez, I.O., Qu, T., Ferreira, J., Ferreira, T.L., Quinn, D., Liu, Z.W., Gao, X.B., et al. (2018). A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. *Cell*, 175(3), 887-888.
- Hansen, G.N., Williamson, M., & Grimmelikhuijzen, C.J. (2002) A new case of neuropeptide coexpression (RGamide and LWamides in hydra), found by whole-mount, two-color double-labeling in situ hybridization. *Cell Tissue Res.*, 308, 157-165.
- Hansen, M.B. (2003). Neurohumoral control of gastrointestinal motility. *Physiol Res*, 52, 1-30.
- Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. (1996). Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, 93(5), 1043-1065.
- Henderson, A.T., Fisher, J.F., Blair, J., Shea, C., Li, T.S., & Bridges, K.G. (2010). Effects of rib raising on the autonomic nervous system: a pilot study using noninvasive biomarkers. *J Am Osteopath Assoc.*, 110 (6), 324-330.
- Henley, C.E., Ivins, D., Mills, M., Wen, F.K., & Benjamin, B.A. (2008). Osteopathic manipulative treatment and its relationship to autonomic nervous system activity as demonstrated by heart rate variability: a repeated measures study. *Osteopath Med Prim Care.*, 2, 7.
- Hibberd, T.J., Zagorodnyuk, V.P., Spencer, N.J., & Brookes, S.J. (2012). Identification and mechanosensitivity of viscerofugal neurons. *Neuroscience*, 225, 118-129.
- Hodge, L.M. (2012). Osteopathic lymphatic pump techniques to enhance immunity and treat pneumonia. *Int J Osteopath Med*, 15, 13-21.
- Hodge, L.M., & Downey, H.F., (2011). Lymphatic pump treatment enhances the lymphatic and immune systems. *Exp. Biol. Med. - Maywood* 236, 1109-1115.
- Hodge, L.M., Bearden, M.K., Schander, A., Huff, J.B., Williams Jr., A., King, H.H., & Downey, H.F., (2010). Lymphatic pump treatment mobilizes leukocytes from the gut associated lymphoid tissue into lymph. *Lymphat. Res. Biol.* 8, 103-110.
- Hoffman, J.M., Tyler, K., MacEachern, S.J., Balemba, O.B., Johnson, A.C., Brooks, E.M., Zhao, H., Swain, G.M., Moses, P.L., Galligan, J.J., et al. (2012). Activation of colonic mucosal 5-HT(4) receptors accelerates propulsive motility and inhibits visceral hypersensitivity. *Gastroenterology*, 142, 844-854.

- Holst, M.C., Kelly, J.B., & Powley, T.L. (1997). Vagal preganglionic projections to the enteric nervous system characterized with phaseolus vulgaris- leucoagglutinin. *J Comp Neurol.*, 381, 81-100.
- Hooper, L.V., Littman, D.R., & Macpherson, A.J. (2012). Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*, 336, 1268–1273.
- Horvath, K., Papadimitriou, J.C., Rabszty, A., Drachenberg, C., & Tildon, J.T., (1999). Gastrointestinal abnormalities in children with autistic disorder. *J. Pediatr.* 135, 559-563.
- Howland, R.H. (2014). Vagus nerve stimulation. *Curr. Behav. Neurosci. Rep.*, 1, 64–73.
- Hruby, R., Tozzi, P., Lunghi, C., and Fusco, G. (2017). *The Five Osteopathic Models: Rational, Application, Integration. From tradition to Innovation for a Centered Person Osteopathy.* Pencaitland: Handspring publishing.
- Hsiao, E.Y., McBride, S.W., Hsien, S., Sharon, G., Hyde, E.R., McCue, T., Codelli, J.A., Chow, J., Reisman, S.E., Petrosino, et al. (2013). Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 155(7), 1451-63.
- Huff, J., Schander, A., Stoll, S.T., Simecka, J.W., Downey, H.F., King, H.H., & Hodge, L.M., (2008). Lymphatic pump treatment enhances immunity and reduces pulmonary disease during experimental pneumonia infection. *Int. J. Osteopathic Med.* 11, 150.
- Hull, C.L. (1943). *Principles Of Behavior: An Introduction to Behavior Theory* (New York: Appleton-Century-Crofts).
- Hundscheid, H.W., Pepels, M.J., Engels, L.G., & Loffeld, R.J., (2007). Treatment of irritable bowel syndrome with osteopathy: results of a randomized controlled pilot study. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 22, 1394-1398.
- ICD-10 Clinical Modification (2010). *International Classification of Disease, 10th revision.* Bethesda, MD: U.S. National Library of Medicine.
- Ierusalimsky, V.N., & Balaban, P.M. (2006). Immunoreactivity to molluskan neuropeptides in the central and stomatogastric nervous systems of the earthworm, lumbricus terrestris l. *Cell Tissue Res.*, 325, 555-565.
- Ito, S., & Kurokawa, M. (2007). Coordinated peripheral neuronal activities among the different regions of the digestive tract in Aplysia. *Zool Sci.*, 24, 714-722.
- Johnson, A.C., Greenwood-Van Meerveld, B., & McRorie, J. (2011). Effects of Bifidobacterium infantis 35624 on post-inflammatory visceral hypersensitivity in the rat. *Digest Dis Sci.*, 56, 3179–3186.
- Johnston, G.W., & Rodgers, H.W. (1965). TREATMENT OF CHRONIC PORTAL-SYSTEMIC ENCEPHALOPATHY BY COLECTOMY. *Br J Surg.*, 52, 424-6.
- Jyonouchi, H., Geng, L., Ruby, A., Reddy, C., & Zimmerman-Bier, B., (2005). Evaluation of an association between gastrointestinal symptoms and cytokine production against common dietary proteins in children with autism spectrum disorders. *J. Pediatr.* 146, 605-610.
- Kass-Simon, G., & Pierobon, P. (2007). Cnidarian chemical neurotransmission, an updated overview. *Comp Biochem Physiol.*, 146, 9-25.
- Kaul-Strehlow, S., Urata, M., Minokawa, T., Stach, T., & Wanninger, A. Neurogenesis in directly and indirectly developing enteropneusts: of nets and cords. *Org Divers Evol.*, 15, 405-422.

- Keast, J.R., Furness, J.B., & Costa, M. (1984). Origins of peptide and norepinephrine nerves in the mucosa of the guinea pig small intestine. *Gastroenterology*, *86*(4), 637-44.
- Kennedy, A.L., & Mawe, G.M. (1998). Duodenal sensory neurons project to sphincter of Oddi ganglia in guinea pig. *J Neurosci.*, *18*, 8065-8073.
- Kenniscentrum kinder - en jeugdpsychiatrie. <https://www.kenniscentrum-kjp.nl/professionals/autisme/>
- Kessler, R.C., & Bromet, E.J. (2013). The epidemiology of depression across cultures. *Annu. Rev. Public Health* *34*, 119–138.
- Kirchgessner, A.L., & Gershon, M.D. (1990). Innervation of the pancreas by neurons in the gut. *J Neurosci.*, *10*, 1626-1642.
- Kitahara, M., Sakamoto, M., & Benno, Y. (2001). PCR detection method of *Clostridium scindens* and *C. hiranonis* in human fecal samples. *Microbiol. Immunol.*, *45* (3), 263-6.
- Klemm, N., Hustert, R., Cantera, R., & Nässel, D.R. (1986). Neurons reactive to antibodies against serotonin in the stomatogastric nervous system and in the alimentary canal of locust and crickets (orthoptera, insecta). *Neuroscience*, *17*, 247-261.
- Kumral, D., Schaare, H. L., Beyer, F., Reinelt, J., Uhlig, M., Liem, F., Lampe, L., Babayan, A., Reiter, A., Erbey, M., et al. (2018). The age-dependent relationship between resting heart rate variability and functional brain connectivity. *Neuroimage* *185*, 521–533.
- Kuwahara, A., (2014). Contributions of colonic short-chain fatty acid receptors in energy homeostasis. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, *5*, 144.
- Lakhan, S.E., & Kirchgessner, A. (2010). Gut inflammation in chronic fatigue syndrome. *Nutr Metab (Lond)*, *12*(7), 79.
- Lamas, K., Lindholm, L., Stenlund, H., Engstrom, B., & Jacobsson, C., (2009). Effects of abdominal massage in management of constipation e a randomized controlled trial. *Int. J. Nurs. Stud.* *46*, 759-767.
- Lanaro, D., Ruffini, N., Manzotti, A., & Lista, G. (2017). Osteopathic manipulative treatment showed reduction of length of stay and costs in preterm infants: a systematic review and meta-analysis. *Medicine* *96*, 6408
- Langley, J.N., & Magnus, R. (1905). Some observations of the movements of the intestine before and after degenerative section of the mesenteric nerves. *J Physiol (Lond).*, *33*, 34-51.
- Law, R., Evans, P., Thorn, L., Clow, A., & Hucklebridge, F. (2015). The cortisol awakening response predicts same morning executive function: results from a 50-day case study. *Stress*, *18*(6), 616-621.
- Le Blanc-Louvry, I., Costaglioli, B., Boulon, C., Leroi, A.M., & Ducrotte, P., (2002). Does mechanical massage of the abdominal wall after colectomy reduce postoperative pain and shorten the duration of ileus? Results of a randomized study. *J. Gastrointest. Surg.* *6*, 43-49.
- Liao, D., Carnethon, M., Evans, G.W., Cascio, W.E., & Heiss, G. (2002). Lower heart rate variability is associated with the development of coronary heart disease in individuals with diabetes: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Diabetes*, *51*, 3524-3531.
- Licciardone, J. C., Gatchel, R. J., & Aryal, S. (2016). Recovery from chronic low back pain after osteopathic manipulative treatment: a randomized controlled trial. *J. Am. Osteopath. Assoc.* *116*, 144–155.

- Linden, W., Earle, T.L., Gerin, W., & Christenfeld, N. Physiological stress reactivity and recovery: conceptual siblings separated at birth? *J Psychosom Res.*, 42(2), 117-135.
- Litchfield, W.R., Hunt, S.C., Jeunemaitre, X., et al. (1998). Increased urinary free cortisol: a potential intermediate phenotype of essential hypertension. *Hypertension*, 31(2), 569-574.
- Lobato, K.R., Cardoso, C.C., Binfare, R.W., Budni, J., Wagner, C.L., Brocardo, P.S., de Souza, L.F., Brocardo, C., Flesch, S., Freitas, A.E., et al. (2010). alpha-Tocopherol administration produces an antidepressant-like effect in predictive animal models of depression. *Behavioural brain research*, 209, 249–259.
- Locke, J (1690). *An essay concerning human understanding*. New York. E.P. Dutton: in Pinker, S. (2002). *The blank slate. The modern denial of human nature*. Penguin Books Ltd.
- Lunghi, C., Tozzi, P., & Fusco, G. (2016). The biomechanical model in manual therapy: is there an ongoing crisis or just the need to revise the underlying concept and application? *J. Bodyw. Mov. Ther.* 20, 784–799.
- Lyte, M., Li, W., Opitz, N., Gaykema, R.P., & Goehler, L.E., (2006). Induction of anxietylike behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia *Citrobacter rodentium*. *Physiol. Behav.*, 89, 350–357.
- Lyte, M., Varcoe, J.J., & Bailey, M.T., (1998). Anxiogenic effect of subclinical bacterial infection in mice in the absence of overt immune activation. *Physiol. Behav.*, 65, 63–68.
- Maes, M., Berk, M., Goehler, L., Song, C., Anderson, G., Galecki, P., & Leonard, B. (2012). Depression and sickness behavior are Janus-faced responses to shared inflammatory pathways. *BMC Med.* 10, 66.
- Maes, M., De Vos, N., Pioli, R., Demedts, P., Wauters, A., Neels, H., & Christophe, A. (2000). Lower serum vitamin E concentrations in major depression. Another marker of lowered antioxidant defenses in that illness. *Journal of affective disorders*, 58, 241–246.
- Malliani, A., Pagani, M., Lombardi, F., & Cerutti, S. (1991). Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation*, 84 (2), 482-492.
- Marcobal, A., De las Rivas, B., Landete, J.M., Tabera, L., Munoz, R. (2012). Tyramine and phenylethylamine biosynthesis by food bacteria. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52, 448–467.
- Martinez-Pereira, M.A., Franceschi, R.D.C., Coelho, B.P., & Zancan, D.M. (2017). The stomatogastric and enteric nervous system of the pulmonate snail *Megalobulimus abbreviatus*: a neurochemical analysis. *Zool Sci.*, 34, 300-311.
- Martinez-Pereira, M.A., Franceschi, R.D.C., Antunes, G.D.F., Coelho, B.P., Achaval, M., & Zancan, D.M. (2013). General morphology and innervation of the midgut and hindgut of *Megalobulimus abbreviatus* (Gastropoda, Pulmonata). *Zool Sci.*, 30, 319-330.
- Mawe, G.M., & Hoffman, J.M. (2013). Serotonin signalling in the gut--functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 10, 473–486.
- Mayer, E. (2018). *The Mind-gut connection. How the hidden conversation within our bodies impacts our mood, our choices, and our overall health* (1^e ed). Londen, Verenigd Koninkrijk: HarperCollins Publishers Inc.
- Mayer, E.A. (2011). Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. *Nat. Rev. Neurosci.*, 12, 453–466.

- Mayer, E.A. (2000). The neurobiology of stress and gastrointestinal disease. *Gut*, 47, 861–869.
- Mcclurg, D., & Lowe-Strong, A., (2011). Does abdominal massage relieve constipation? *Nurs. Times* 107, 20-22.
- McEwen, B.S., Bowles, N.P., Gray, J.D., Hill, M.N., Hunter, R.G., Karatsoreos, I.N., & Nasca, C. (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nat. Neurosci.* 18, 1353–1363.
- McKernan, D.P., Fitzgerald, P., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2010). The probiotic Bifido-bacterium infantis 35624 displays visceral antinociceptive effects in the rat. *Neurogastroenterol Motil.*, 22, 1029–1035. e268.
- McNulty, N.P., Yatsunenko, T., Hsiao, A., Faith, J.J., Muegge, B.D., Goodman, A.L., Henrissat, B., Oozeer, R., Cools-Portier, S., Gobert, G., et al. (2011). The impact of a consortium of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins. *Sci Transl Med.*, 3, 106ra106.
- McVey Neufeld, K.A., Mao, Y.K., Bienenstock, J., Foster, J.A., & Kunze, W.A. (2013). The microbiome is essential for normal gut intrinsic primary afferent neuron excitability in the mouse. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 25, e183– e188.
- Meissner, K., Bingel, U., Colloca, L., Wager, T.D., Watson, A., Flaten, M.A. (2011). The placebo effect: advances from different methodological approaches. *J Neurosci.*, 31, 16117–16124.
- Mercado, C.P., Quintero, M.V., Li, Y., Singh, P., Byrd, A.K., Talabnin, K., Ishihara, M., Azadi, P., Rusch, N.J., Kuberan, B., et al. (2013). A serotonin-induced N-glycan switch regulates platelet aggregation. *Scientific reports*, 3, 2795.
- Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdj, A., Bisson, J.F., Rougeot, C., Pichelin, M., Cazaubie, I. M., et al. (2011). Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) in rats and human subjects. *Br J Nutr*, 105(5), 755-64.
- Mestdagh, R., Dumas, M.E., Rezzi, S., Kochhar, S., Holmes, E., Claus, S.P., & Nicholson, J.K. (2012). Gut microbiota modulate the metabolism of brown adipose tissue in mice. *J Prot Res.*, 11, 620–630.
- Miana, L., Bastos, V.H., Machado, S., Arias-Carrión, O., Nardi, A.E., Almeida, L., Ribeiro, P., Machado, D., King, H., & Silva, J.G. (2013). Changes in alpha band activity associated with application of the compression of fourth ventricular (CV-4) osteopathic procedure: a qEEG pilot study. *J Bodyw Mov Ther.*, 17(3), 291-6.
- Montano, N., Ruscone, T.G., Porta, A., Lombardi, F., Pagani, M., & Malliani, A. (1994). Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. *Circulation*, 90(4), 1826-1831.
- Moriss, M.M., (2013). *Vagus nerve*. In: Encyclopedia of Science. Salem Press.

- Muller, P.A., Koscsó, B., Rajani, G.M., Stevanovic, K., Berres, M.L., Hashimoto, D., Mortha, A., Leboeuf, M., Li, X.M., Mucida, D., et al. (2014). Crosstalk between muscularis macrophages and enteric neurons regulates gastrointestinal motility. *Cell*, *158*, 300–313.
- Narushima, S., Itoha, K., Miyamoto, Y., Park, S.H., Nagata, K., Kuruma, K., & Uchida, K. (2006). Deoxycholic acid formation in gnotobiotic mice associated with human intestinal bacteria. *Lipids*, *41*(9), 835–43.
- Nässel, D.R., Eckert, M., Muren, J.E., & Penzlin, H. (1998). Species- specificaction and distribution of tachykinin- related peptides in the foregut of the cockroaches *Leucophaea maderae* and *Periplaneta americana*. *J Exp Biol.*, *201*, 1615–1626.
- Neufeld, K.A., Kang, N., Bienenstock, J., & Foster, J.A., (2011a). Effects of intestinal microbiota on anxiety-like behavior. *Commun. Integr. Biol.* *4*, 492–494.
- Neufeld, K.M., Kang, N., Bienenstock, J., & Foster, J.A., (2011b). Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil.*, *23*, 255–264. e119.
- Neuhuber, W.L., Appelt, M., Polak, J.M., Baier Kustermann, W., Abelli, L., & Ferri, G.L. (1993). Rectospinal neurons: cell bodies, pathways, immunocytochemistry and ultrastructure. *Neuroscience*, *56*, 367–378.
- Nicholson, J.K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., Pettersson, S., (2012). Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, *336*, 1262–1267.
- Nikolov, R.N., Bearss, K.E., Lettinga, J., Erickson, C., Rodowski, M., Aman, M.G., Mccracken, J.T., Mcdougle, C.J., Tierney, E., Vitiello, B., et al. (2009) Gastrointestinal symptoms in a sample of children with pervasive developmental disorders. *J. Autism Dev. Disord.* *39*, 405–413.
- Norgren, R., & Smith, G.P. (1988). Central distribution of subdiaphragmatic vagal branches in the rat. *J. Comp. Neurol.*, *273*, 207–223.
- Okamoto, T., & Kurokawa, M. (2010). The role of the peripheral enteric nervous system in the control of gut motility in the snail *Lymnaea stagnalis*. *Zool Sci.*, *27*, 602–610.
- Olds, J. (1976). Do reward and drive neurons exist? In *Psychopathology of Human Adaptation*, G. Serban, ed. (Boston, MA: Springer).
- Oleskin, A.V., Kirovskaia, T.A., Botvinko, I.V., & Lysak, L.V. (1998). Effect of serotonin (5-hydroxytryptamine) on the growth and differentiation of microorganisms. *Mikrobiologija*, *67*, 305–312.
- Olsson, C., & Holmgren, S. (2010). Autonomic control of gut motility: a comparative view. *Autonom Neurosci.*, *165*, 80–101.
- O'Mahony, S.M., Hyland, N.P., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2011). Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction. *Psychopharmacology (Berl.)*, *214*(1), 71–88.
- O'Mahony, S.M., Marchesi, J.R., Scully, P., Codling, C., Ceolho, A.M., Quigley, E.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. *Biol Psychiatry*, *65*(3), 263–7.
- Ossipov, M.H., Dussor, G.O., & Porreca F. (2010). Central modulation of pain. *J Clin Invest.*, *120*, 3779– 3787.

- Owen, A.J., Batterham, M.J., Probst, Y.C., Grenyer, B.F., & Tapsell, L.C. (2005). Low plasma vitamin E levels in major depression: diet or disease? *European journal of clinical nutrition*, *59*, 304–306.
- Padbury, R.T.A., Furness, J.B., Baker, R.A., Toouli, J., & Messenger, J.P. (1993). Projections of nerve cells from the duodenum to the sphincter of Oddi and gallbladder of the Australian possum. *Gastroenterology*, *104*, 130-136.
- Persico, A.M., & Napolioni, V. (2013). Urinary p-cresol in autism spectrum disorder. *Neurotoxicology and teratology*, *36*, 82–90.
- Prechtel, J.C., & Powley, T.L. (1990). The fiber composition of the abdominal vagus of the rat. *Anat. Embryol. (Berl.)*, *181*, 101–115.
- Preidis, G.A., Saulnier, D.M., Blutt, S.E., Mistretta, T.A., Riehle, K.P., Major, A.M., Venable, S.F., Finegold, M.J., Petrosino, J.F., & Conner, M.E., et al. (2012). Probiotics stimulate enterocyte migration and microbial diversity in the neonatal mouse intestine. *FASEB J.*, *26*, 1960–1969.
- Puizillout, J.J. (2005). *Central Projections of Vagal Afferents* (Paris: Editions Publibook).
- Quigley, E.M. (2011). Microflora modulation of motility. *Journal of neurogastroenterology and motility*, *17*, 140–147.
- Ramage, A.G., & Villalon, C.M. (2008). 5-hydroxytryptamine and cardiovascular regulation. *Trends in pharmacological sciences*, *29*, 472–481.
- Rao, A.V., Bsted, A.C., Beaulne, T.M., Katzman, M.A., Iorio, C., Berardi, J.M., & Logan, A.C. (2009) A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathog.* *2009*, *1(1)*, 1-6.
- Rattiner, L.M., Davis, M., & Ressler, K.J. Differential regulation of brain-derived neurotrophic factor transcripts during the consolidation of fear learning. *Learn. Mem.*, *11*, 727–731.
- Raybould, H.E. (2010) Gut chemosensing: interactions between gut endocrine cells and visceral afferents. *Auton Neurosci.*, *153*, 41–46.
- Reber, S.O., (2012). Stress and animal models of inflammatory bowel disease—an update on the role of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*, *37*, 1–19.
- Reichelt, K.L., & Knivsberg, A.M., (2009). The possibility and probability of a gut-to-brain connection in autism. *Ann. Clin. Psychiatry* *21*, 205-211.
- Renard, E., Gazave, E., Fierro-Constain, L., et al. (2013) Porifera (sponges): recent knowledge and new perspectives. *Encycl Life Sci.*, <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001582.pub2>.
- Rhee, S.H., Pothoulakis, C., & Mayer, E.A. (2009). Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.*, *6*, 306–314.
- Ringel, Y., & Ringel-Kulka, T. (2015). The intestinal microbiota and irritable bowel syndrome. *J. Clin. Gastroenterol*, *49 (Suppl. 1)*, S56–S59.
- Ringel-Kulka, T., McRorie, J., & Ringel, Y. (2017). Multi-center, double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study to evaluate the benefit of the probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in non-patients with symptoms of abdominal discomfort and bloating. *Am. J. Gastroenterol*, *112(1)*, 145-151.
- Riordan, S.M., & Williams, R. (2010). Gut flora and hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *N Engl J Med.*, *362(12)*, 1140-2.

- Roman, P., Abalo, R., Marco, E.M., & Cardona, D. (2018). Probiotics in digestive, emotional, and pain-related disorders. *Behav Pharmacol*, 29(2 and 3-Spec Issue), 103-119.
- Rose, S., Niyazov, D.M., Rossignol, D.A., Goldenthal, M., Kahler, S.G., & Frye, R.E. (2018) Clinical and Molecular Characteristics of Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorder. *Mol Diagn Ther*, 22(5), 571-593.
- Roshchina, V.V. (2010). Evolutionary Considerations of Neurotransmitters in Microbial, Plant, and Animal Cells. *Microbial Endocrinology*, 17–52.
- Round, J.L., & Mazmanian, S.K. (2009). The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.*, 9, 313–323.
- Rousseaux, C., Thuru, X., Gelot, A., Barnich, N., Neut, C., Dubuquoy, L., Dubuquoy, C., Merour, E., Geboes, K., Chamaillard, M., et al. (2007). Lactobacillus acidophilus modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nat Med.*, 13, 35–37.
- Ruffini, N., D'Alessandro, G., Cardinali, L., Frondaroli, F., & Cerritelli, F. (2016). Osteopathic manipulative treatment in gynecology and obstetrics: a systematic review. *Complement. Ther. Med.* 26, 72–78.
- Ruffini, N., D'Alessandro, G., Mariani, N., Pollastrelli, A., Cardinali, L., & Cerritelli, F. (2015). Variations of high frequency parameter of heart rate variability following osteopathic manipulative treatment in healthy subjects compared to control group and sham therapy: randomized control trial. *Front Neurosci.*, 9, 272.
- Sakaguchi, M., Mizusina, A., & Kobayakawa, Y. (1996). Structure, development, and maintenance of the nerve net of the body column in hydra. *J Comp Neurol.*, 373, 41-54.
- Savelieva, K.V., Zhao, S., Pogorelov, V.M., Rajan, I., Yang, Q., Cullinan, E., & Lanthorn, T.H. (2008). Genetic disruption of both tryptophan hydroxylase genes dramatically reduces serotonin and affects behavior in models sensitive to antidepressants. *PLoS One*, 3, e3301.
- Sawchenko, P.E. (1983). Central connections of the sensory and motor nuclei of the vagus nerve. *J Auton Nerv Syst.*, 9(1), 13-26.
- Sayin, S.I., Wahlstrom, A., Felin, J., Jantti, S., Marschall, H.U., Bamberg, K., Angelin, B., Hyotylainen, T., Oresic, M., & Backhed, F. (2013). Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist. *Cell metabolism*, 17, 225– 235.
- Schander, A., Bearden, M.K., Huff, J.B., Williams, A., Stoll, S.T., Simecka, J.W., King, H.H., Downey, H.F., & Hodge, L.M., (2008). Lymphatic pump treatment mobilizes leukocytes from the gut associated lymphoid tissue into thoracic duct lymph. *Int. J. Osteopathic Med.* 11, 149.
- Schieve, L.A., Gonzalez, V., Boulet, S.L., Visser, S.N., Rice, C.E., Van Naarden Braun, K., & Boyle, C.A., (2012). Concurrent medical conditions and health care use and needs among children with learning and behavioral developmental disabilities, National Health Interview Survey, 2006e2010. *Res. Dev. Disabil.* 33, 467-476.
- Schrocksnadel, K., Wirleitner, B., Winkler, C., & Fuchs, D. (2006). Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin. Chim. Acta* 364, 82–90.
- Schultz, W. (2015). Neuronal reward and decision signals: from theories to data. *Physiol. Rev.*, 95, 853–951.
- Schwartz, G.J. (2000). The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. *Nutrition*, 16, 866–873.

- Sclafani, A. (2013). Gut-brain nutrient signaling. Appetition vs. satiation. *Appetite*, *71*, 454–458.
- Seki, E., & Schnabl, B. (2012). Role of innate immunity and the microbiota in liver fibrosis: crosstalk between the liver and gut. *J Physiol.*, *590*, 447–458.
- Sekirov, I., Russell, S.L., Antunes, L.C., & Finlay, B.B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, *90*(3), 859-904.
- Sgoifo, A., Braglia, F., Costoli, T., Musso, E., Meerlo, P., Ceresini, G., & Troisi, A. (2003). Cardiac autonomic reactivity and salivary cortisol in men and women exposed to social stressors: relationship with individual ethological profile. *Neurosci Biobehav Rev.*, *27*(1-2), 179-188.
- Sgoifo, A., Carnevali, L., Pico-Alfonso, M., & Amore, M. (2015). Autonomic dysfunction and heart rate variability in depression. *Stress*, *18* (3), 343-352.
- Shapiro, R.E., & Miselis, R.R. (1985). The central organization of the vagus nerve innervating the stomach of the rat. *J. Comp. Neurol.*, *238*, 473–488.
- Sharkey , K.A., Lomax, A.E.G., Bertrand, P.P., & Furness, J.B. (1998). Electrophysiology, shape and chemistry of intestinofugal neurons projecting from guinea pig distal colon to inferior mesenteric ganglia. *Gastroenterology*, *115*, 909-918.
- Sharon, G., Sampson, T.R., Geschwind, D.H., & Mazmanian, S.K. (2016). The central nervous system and the gut microbiome. *Cell*, *167*, 915–932.
- Sherwin, E., Sandhu, K.V., Dinan, T.G., & Cryan, J.F. (2016). May the force be with you: the light and dark sides of the microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatry. *CNS Drugs*, *30*, 1019–1041.
- Shi, X., Rehrer, S., Prajapati, P., Stoll, S.T., Gamber, R.G., & Downey, H.F. (2011). Effect of cranial osteopathic manipulative medicine on cerebral tissue oxygenation. *J Am Osteopath Assoc*, *111*, 660–666.
- Shimizu, H., Koizumi, O., & Fujisawa, T. (2004). Three digestive movements in Hydra regulated by the diffuse nerve net in the body column. *J Comp Physiol.*, *190*, 623-630.
- Sjogren, K., Engdahl, C., Henning, P., Lerner, U.H., Tremaroli, V., Lagerquist, M.K., Backhed, F., & Ohlsson, C. (2012). The gut microbiota regulates bone mass in mice. *J Bone Miner Res.*, *27*, 1357–1367.
- Song, C., Lin, A., Bonaccorso, S., Heide, C., Verkerk, R., Kenis, G., Bosmans, E., Scharpe, S., Whelan, A., Cosyns, P., de Jongh, R., & Maes, M. (1998). The inflammatory response system and the availability of plasma tryptophan in patients with primary sleep disorders and major depression. *J. Affect. Disord.* *49*, 211–219.
- Sonnenburg, J. & Sonnenburg, E. (2015). *The Good Gut. Taking Control of Your Weight, Your Mood, and Your Long-Term Health*. Penguin Books.
- Soret, R., Chevalier, J., De Coppet, P., Poupeau, G., Derkinderen, P., Segain, J.P., & Neunlist, M. (2010). Short-chain fatty acids regulate the enteric neurons and control gastrointestinal motility in rats. *Gastroenterology*, *138*, 1772–1782.
- Spencer, N.J., Dinning, P.G., Brookes, S.J., Costa, M. (2016). Insights into the mechanisms underlying colonic motor patterns. *J Physiol.*, *594*(15), 4099-116.
- Spencer, N.J. (2015). Constitutively active 5-HT receptors: an explanation of how 5-HT antagonists inhibit gut motility in species where 5-HT is not an enteric neurotransmitter? *Front Cell Neurosci.*, *9*, 487.

- Spencer, N.J., Kerrin, A., Zagorodnyuk, V.P., et al. (2008). Identification of functional intramuscular rectal mechanoreceptors in aganglionic rectal smooth muscle from piebald lethal mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, 294, G855-G867.
- Stasi, C., Bellini, M., Bassotti, G., Blandizzi, C., & Milani, S. (2014). Serotonin receptors and their role in the pathophysiology and therapy of irritable bowel syndrome. *Techniques in coloproctology*.
- Staud, R. (2009). Abnormal pain modulation in patients with spatially distributed chronic pain: fibromyalgia. *Rheum Dis Clin N Am.*, 35, 263–274.
- Stebbing, M.J., & Bornstein, J.C. (1994). Electrophysiological analysis of the convergence of peripheral inputs onto neurons of the coeliac ganglion in the guinea pig. *J Auton Nerv Syst.*, 46, 93-105.
- Stone, C., (1999). *Fluid Dynamics and Body Movement. In: Science in the Art of Osteopathy - Osteopathic Principles and Practice.* Stanley Thornes Publishers Ltd, Cheltenham.
- Su, Z., Alhadeff, A.L., & Betley, J.N. (2017). Nutritive, post-ingestive signals are the primary regulators of AgRP neuron activity. *Cell Rep.*, 21, 2724–2736.
- 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. *J. Physiol.* 558, 263–275.
- Sun, Z., Guo, S.S., & Fässler, R. (2016). Integrin-mediated mechanotransduction. *J Cell Biol.*, 215(4), 445-456.
- Szurszewski, J.H., Ermilov, L.G., & Miller, S.M. (2002). Prevertebral ganglia and intestinofugal afferent neurones. *Gut*, 51, i6-i10.
- Szurszewski, J.H., & Miller, S.M. (1994). *Physiology of prevertebral ganglia. In: Johnson LR, ed. Physiology of the Gastrointestinal Tract*, 3rd edn. New York: Raven Press, 795-877.
- Tamburella, F., Piras, F., Piras, F., Spanò, B., Tramontano, M., & Gili, T. (2019). Cerebral Perfusion Changes After Osteopathic Manipulative Treatment: A Randomized Manual Placebo-Controlled Trial. *Front Physiol.*, 10, 403.
- Task Force on the Low Back Pain Clinical Practice Guidelines (2016). American osteopathic association guidelines for osteopathic manipulative treatment (OMT) for patients with low back pain. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 116, 536–549.
- Tassorelli, C., Tramontano, M., Berlangieri, M., Schweiger, V., D'Ippolito, M., Palmerini, V., et al. (2017). Assessing and treating primary headaches and cranio-facial pain in patients undergoing rehabilitation for neurological diseases. *J. Headache Pain* 18, 99.
- Tazoe, H., Otomo, Y., Kaji, I., Tanaka, R., Karaki, S.I., & Kuwahara, A. (2008). Roles of short-chain fatty acids receptors, GPR41 and GPR43 on colonic functions. *J Physiol Pharmacol.*, 59(Suppl 2), 251–262.
- Thayer, J.F., Lane, R.D. (2009). Claude Bernard and the heart-brain connection: further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev.*, 33(2), 81-88.
- Thomas, C.M., Hong, T., van Pijkeren, J.P., Hemarajata, P., Trinh, D.V., Hu, W., Britton, R.A., Kalkum, M., & Versalovic, J. (2012). Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling. *PloS One*, 7, e31951.
- Thomson, O. P., Petty, N. J., & Moore, A. P. (2011). Clinical reasoning in osteopathy - more than just principles. *Int. J. Osteopath. Med.* 14, 71–76.

- Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B., Guyonnet, D., Legrain-Raspaud, S., Trotin, B., Naliboff, B., et al. (2013). Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*, *144*(7), 1394-401.
- Tsavkelova, E.A., Klimova, S., Cherdyntseva, T.A., & Netrusov, A.I. (2006). Hormones and hormone-like substances of microorganisms: a review. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologija*, *42*, 261–268.
- Uribe, A., Alam, M., Johansson, O., Midtvedt, T., & Theodorsson, E. (1994). Microflora modulates endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the rat. *Gastroenterology*, *107*, 1259–1269.
- Uyttebroek, L., Shepherd, I.T., Harrisson, F., et al. (2010). Neurochemical coding of enteric neurons in adult and embryonic zebrafish (*Danio rerio*). *J Comp Neurol.*, *518*, 4419-4438.
- Van Ravenswaay, V.J., Hain, S.J., Grasso, S., & Shubrook, J.H. (2015). Effects of osteopathic manipulative treatment on diabetic gastroparesis. *J Am Osteopath Assoc*, *115*, 452–458.
- Waller, P.A., Gopal, P.K., Leyer, G.J., Ouwehand, A.C., Reifer, C., Stewart, M.E., & Miller, L.E. (2011). Dose-response effect of *Bifidobacterium lactis* HN019 on whole gut transit time and functional gastrointestinal symptoms in adults. *Scand J Gastroenterol.*, *46*, 1057–1064.
- Walther, D.J., Peter, J.U., Bashammakh, S., Hortnagl, H., Voits, M., Fink, H., & Bader, M. (2003) Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. *Science*, *299*, 76.
- Wang, X., Wang, B.R., Zhang, X.J., Xu, Z., Ding, Y.Q., & Ju, G., (2002). Evidences for vagus nerve in maintenance of immune balance and transmission of immune information from gut to brain in STM-infected rats. *World J. Gastroenterol.*, *8*, 540–545.
- Watanabe, H., Fujisawa, T., Holstein, T.W. (2009). Cnidarians and the evolutionary origin of the nervous system. *Develop Growth Differ.*, *51*, 167-183.
- Watt, G.C., Harrap, S.B., Foy, C.J., Holton, D.W., Edwards, H.V., Davidson, H.R., Connor, J.M., Lever, A.F., Fraser, R. (1992). Abnormalities of glucocorticoid metabolism and the renin-angiotensin system: a four-corners approach to the identification of genetic determinants of blood pressure. *J Hypertens.*, *10*(5), 473-482.
- Wells, J.M., Rossi, O., Meijerink, M., & van Baarlen, P. (2011). Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *PNAS*, *108*(Suppl 1), 4607–4614.
- Westfall, J.A., Elliott, S.R., MohanKumar, P.S., & Carlin, R.W. (2000). Immunocytochemical evidence for biogenic amines and immunogold labeling of serotonergic synapses in tentacles of *Aiptasia pallida* (Cnidaria, Anthozoa). *Invertebr Biol.*, *119*, 370-378.
- Whorwell, P.J., Altringer, L., Morel, J., Bond, Y., Charbonneau, D., O'Mahony, L., Kiely, B., Shanahan, F., & Quigley, E.M. (2006). Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol.*, *101*, 1581– 1590.
- Wikoff, W.R., Anfora, A.T., Liu, J., Schultz, P.G., Lesley, S.A., Peters, E.C., & Siuzdak, G. (2009). Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. *Proc Natl Acad Sci USA*, *106*, 3698–3703.
- Wilder-Smith, C.H. (2011). The balancing act: endogenous modulation of pain in functional gastrointestinal disorders. *Gut*, *60*, 1589–1599.
- Williams, B.B., Van Benschoten, A.H., Cimermancic, P., Donia, M.S., Zimmermann, M., Taketani, M., Ishihara, A., Kashyap, P.C., Fraser, J.S., & Fischbach, M.A. (2014). Discovery and Characterization of Gut Microbiota Decarboxylases that Can Produce the Neurotransmitter Tryptamine. *Cell host & microbe*, *16*, 495–503.

Williams, E.K., Chang, R.B., Strohlic, D.E., Umans, B.D., Lowell, B.B., & Liberles, S.D. (2016). Sensory neurons that detect stretch and nutrients in the digestive system. *Cell* 166, 209–221.

Wing, L., (1998). *The behaviour of children with autistic spectrum disorders. In: History in the Autism Spectrum e the Autistic Spectrum e a Guide for Parents and Professionals.* London Constable.

Yadav, V.K., Ryu, J.H., Suda, N., Tanaka, K.F., Gingrich, J.A., Schutz, G., Glorieux, F.H., Chiang, C.Y., Zajac, J.D., Insogna, K.L., et al. (2008). Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. *Cell*, 135, 825–837.

Yin, J., & Chen, J.D. (2013). Electrogastrography: Methodology, validation and applications. *J Neurogastroenterol Motil*, 19, 5–17.