

Fra tarm til sind: En undersøgelse af sammenhænge mellem butyratproducerende bakterier og psykisk sygdom



Projekt Forskerspirer 2024

SUND

29. oktober 2024

Projekt Forskerspirer 2024	
Titel	Fra tarm til sind: En undersøgelse af sammenhænge mellem butyratproducerende bakterier og psykisk sygdom
Identifikationskode	SF191
Navn	Sabine Færge
Gymnasium	Slotshaven Gymnasium
Fagområde	SUND

Indholdsfortegnelse

Indledning.....	2
Formål, hypoteser og afgrænsning	2
Metode	3
Baggrundsteori	6
Dysbiose, lavere forekomst af butyratproducerende bakterier og psykisk lidelse	6
Butyrats antiinflammatoriske, neuromodulerende og antidepressive effekter	7
Forundersøgelser.....	8
Præ-review samt protokol til et systematisk review og metaanalyse	8
Foreløbige resultater fra tværsnitsstudie.....	8
Forskerspiserprojektet og dets udførelse	10
Konklusion og perspektivering	12
Taksigelser.....	12
Litteraturliste	13
Bilag 1: Anvendte forkortelser	16
Bilag 2: Præ-litteraturstudium	17
Bilag 3: OSF-protokol til metaanalyse.....	17
Bilag 4: Projektplan til Forskerspiserprojektet og foreløbige resultater	17
Bilag 5: Budget til Forskerspiserprojektet	22

Indledning

Psykiske lidelser repræsenterer nogle af de mest prævalente og omkostningstunge folkesygdomme i verden og Danmark: Knap halvdelen af befolkningen vil i løbet af deres liv få en psykiatrisk diagnose (Sundhedsstyrelsen, 2022), 30 % vil blive behandlet i hospitalssektoren og 80 % vil få psykofarmaka (Orbe & Benros, 2024).

Med afsæt i personlige erfaringer med psykisk sygdom brænder jeg for at forstå koblingen mellem krop, biologi og psyke, særligt forholdet mellem psykisk sygdom og immunforsvaret – et spirende forskningsområde, der kaldes immunopsykiatri¹.

Et øget inflammatorisk respons er stærkt associeret med risikoen for at udvikle en psykiatrisk lidelse, hvilket åbner for nye behandlingsmetoder ift. brugen af f.eks. immunmodulerende lægemidler eller naturlige immunmodulerende agenter (Orbe & Benros, 2024), (Orlovska-Waast & Benros, 2021). Indtil videre har den primære antidepressive medicin bestået af SSRI'er (se anvendte forkortelser i bilag 1), men den gennemsnitlige, kliniske effekt er i bedste fald beskednen, og SSRI'er har en række negative bivirkninger (Jakobsen et al., 2017). Det kan f.eks. fremhæves, at et stort studie (n=3.671) af Rush et al. (2006) viste, at 33 % af alle depressionspatienter ikke responderede på nogle SSRI-præparater overhovedet. Der er derfor behov for nye tiltag og behandlinger, der kan forbedre patienternes prognose.

For at forstå samspillet mellem immunsystemet og psyken er der en stigende opmærksomhed på tarmmikrobiomet. Dysbiose i tarmmikrobiomet, dvs. en ubalance i forholdet mellem gavnlige og skadelige bakterier (Degruittola et al., 2016), menes at kunne forårsage eller bidrage til psykiske lidelser gennem komplekse interaktioner med tarm-hjerne akse (Liu et al., 2022).

Formål, hypoteser og afgrænsning

Dette projekts hovedformål er at undersøge sammenhængen mellem dysbiose i tarmmikrobiomet og psykiske lidelser:

- **Primær hypotese:** Lavere forekomst af butyratproducerende bakterier er associeret med øget risiko for psykisk sygdom og psykiatriske symptomer.

¹ Min personlige undren og mit engagement i immunopsykiatri har afsæt i egne tidligere erfaringer med psykisk sygdom samt efterfølgende uforklarlige inflammationstilstande. Min faglige undren ifm. dette projekts fokus på butyrat blev initieret, da jeg under et praktikforløb hos min forskerkontakt læste videnskabelig litteratur, hvor jeg bemærkede, at de eneste konsistente mikrobiomkendetegn på tværs af artikler var en lavere forekomst af butyratproducerende bakterier. Jeg undrede mig derfor over hvorfor, der ikke var andre, der havde arbejdet videre med idéen om butyrat som potentiel behandlingsmetode.

- **Sekundær hypotese:** Butyrat kan fungere som antiinflammatorisk og antidepressiv supplerende behandling af psykiatriske lidelser.

Følgende studiedesign opsættes til at undersøge de to hypoteser:

- **Tværsnitstudie:** Psykometriske parametre fra DNBC undersøges for korrelationer med metagenomisk bakterietaxa fra GlutenFyn subkohorten.
- **Et systematisk review og metaanalyse:** Den nuværende viden afdækkes og syntetiseres for potentielt at dokumentere behovet for fremtidige kliniske interventionsstudier med butyrat til behandling af psykiske lidelser.

Den sekundære hypotese – dvs. det systematiske review og metaanalyse – er *ikke* en del af Forskerspirerprojektet. Metaanalysen er under udarbejdelse og fungerer som forundersøgelse, brobygger og støtte til Forskerspirerprojektet (figur 1).

Afgrænsning:

Jeg fokuserer i tværsnitstudiet på butyratproducerende bakterier. I metaanalysen fokuserer jeg ligeledes på butyrat (frem for alle SCFAs² og andre metabolitter) som potentiel behandling. Butyrat er derfor min primære afgrænsning og det gennemgående fokus i begge studier.

Forskerspirerprojektet er et tværsnitstudie med data fra DNBC og GlutenFyn, hvor der i kontekst af psykisk lidelse findes data på spiseforstyrrelser, depression og livskvalitet (se bilag 4, tabel 1).

Metode

Mit overordnede mål er at validere eller falsificere mine hypoteser med udgangspunkt i den hypotetisk deduktive metode. Empirien i mit Forskerspirerprojekt er data fra tværsnitstudiet indlejret i DNBC og GlutenFyn.

DNBC er en landsdækkende fødselskohorte, der i 1997-2004 indsamlede data om 100.000 gravide og deres babyer. Herefter har der været seks longitudinale opfølgninger. Den sidste var 18-årsopfølgningen, som løb fra 2016 til 2022. I denne periode kontaktede DNBC-forskere 89.205 unge DNBC-deltagere for at udfylde et spørgeskema, primært med fokus på mental sundhed, men der var også spørgsmål relateret til socioøkonomisk status og fysisk sundhed (Statens Serum Institut, 2023). Jeg har via min tilknytning som gæsteforsker på Folkesundhedsinstituttet på KU allerede adgang til DNBC-data.

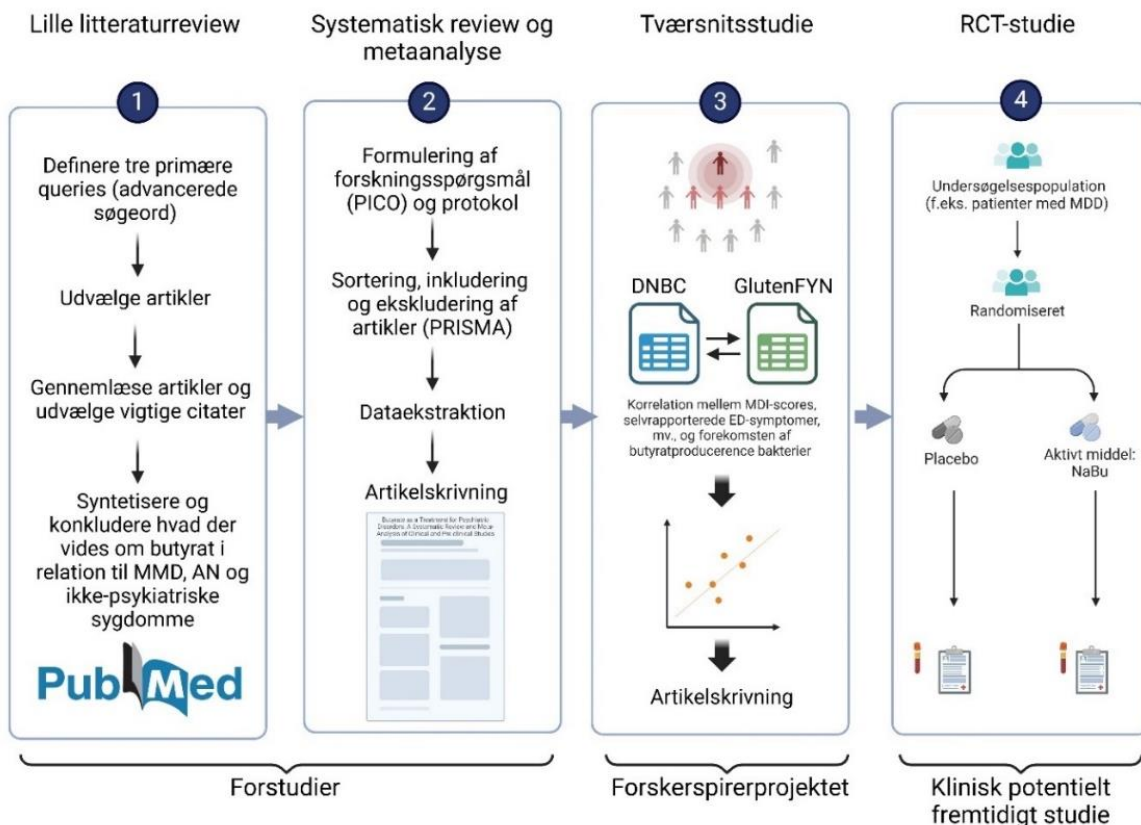
² Udover butyrat er de primære kortkædede fedtsyrer hhv. acetat og propionat.

GlutenFyn-kohorten, indlejret i DNBC, består af 1.266 deltagere, og blev etableret mellem 2017-2020. Dens primære formål er at undersøge cøliaki. Deltagerne blev i alderen 15-21 år inviteret til et klinisk besøg, der involverede antropometriske målinger og indsamling af en fæcesprøve (Crawley et al., 2023).

Fæcesprøverne er senere blevet whole-genome sekventeret og rådata behandlet til "polyseq"-objekter, hvilke jeg har adgang til.

Jeg vil undersøge min primære hypotese i GlutenFyn-kohorten bestående af 679 individer (ud af 1.266 GlutenFyn-deltagere), som har indleveret fæcesprøver og svaret på relevante spørgsmål om spiseforstyrrelser og livskvalitet i 11- og 18-årsopfølgningen. Mit Forskerspirerprojekt er et tværsnitstudie ("cross-sectional study"), modsat et longitudinelt studie (Aarhus Universitet, n.d.), idet fæcesindsamlingen forløb parallelt med 18-årsopfølgningen. I et tværsnitstudie analyserer man forskelle og ligheder mellem kategorier af deltagere. Jeg undersøger bl.a. forskellene mellem individer med og uden spiseforstyrrelser samt mellem dem med moderat til stærkt nedsat livskvalitet og dem med normal til høj livskvalitet.

Figur 1 opsummerer de forskellige trin og dertilhørende metoder, der knytter sig til mit samlede projekt.



Figur 1: Projektets fire overordnede faser på både kort og lang sigt: Fase 1 er afsluttet, fase 2 er et igangværende studie, fase 3 udgør Forskerspirerprojektet og fase 4 er et fremtidigt hypotetisk RCT-studie. Figuren er fremstillet vha. BioRender.

Fase 1 og 2 er litteraturstudier. Fase 1 er fuldført (bilag 2), og er blevet brugt til vurdering af, hvorvidt det var relevant at udføre fase 2. Fase 2 er et systematisk review og metaanalyse af kliniske og prækliniske undersøgelser angående butyrat som behandling af psykiatriske lidelser (bilag 3).

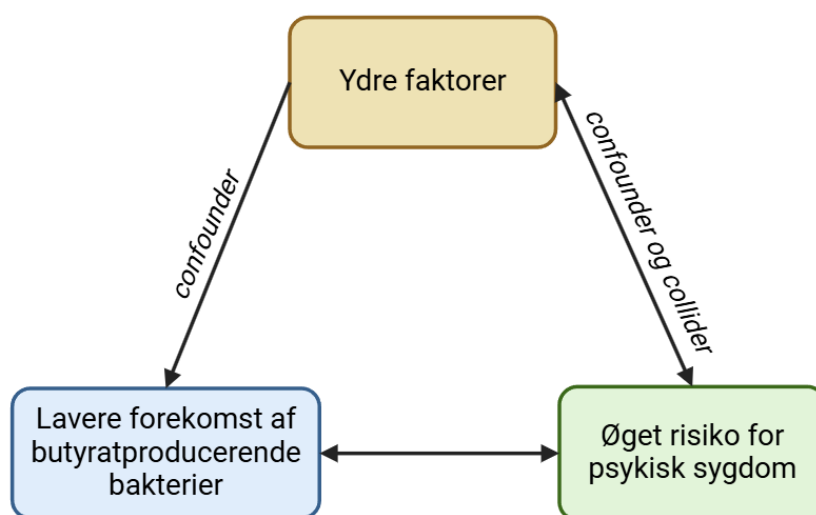
Fase 3 er Forskerspirerprojektet, hvor jeg skal undersøge, om der i DNBC og GlutenFyn kan findes evidens for hypotesen om, at en lavere forekomst af butyratproducerende bakterier er forbundet med øget sværhedsgrad af psykiatriske symptomer.

Fase 4 afhænger af resultaterne af fase 2 og 3, som potentielt vil kunne bakke op om et fremtidigt klinisk RCT-studie med butyrat som intervention.

Idet Forskerspirerprojektet er et tværsnitsstudie, kan der ikke kortlægges kausalitetsforhold men kun korrelationer. Svagheden er derfor, at jeg ikke kan kortlægge, hvorvidt eventuelle mikrobielle forandringer er årsag til spiseforstyrrelser, depression og forringet livskvalitet eller visa versa. Dette er forsøgt illustreret nærmere i figur 2.

Den nuværende litteratur inden for mikrobiomet og psykisk sygdom har et fravær af store originale undersøgelser ifm. mikrobiomændringer ved psykiske lidelser (Vindegaard et al., 2021). Dette fravær er endnu mere dominerende i

dansk kontekst. Styrken ved mit tværsnitsstudie er derfor, at det er et fhv. stort datasæt (679 individer) sammenlignet med lignende mikrobiomtværsnitsstudier, hvilket tilgodeser behovet for mere primærdata i en dansk kontekst til at undersøge forholdet mellem mikrobiomet og psykiske lidelser. Desuden kan det unikke data fra DNBC kobles med unikke danske register-data og dermed muliggøre detaljerede justeringer af de statistiske analyser, som ellers er vanskeligt i mange andre lande.



Figur 2: Årsags-virkningsrelationer og forstyrrende faktorer. Figuren er fremstillet vha. BioRender.

Jeg undersøger sammenhængen mellem en lavere relativ forekomst af butyratproducerende bakterier (årsag) og forekomsten samt sværhedsgraden af psykisk sygdom (effekt). Det vides dog endnu ikke, om det går den anden vej, altså om psykisk sygdom er årsagen til den lavere forekomst af butyratproducerende bakterier. Jeg kan derfor ikke sige noget om kausalitet.

Desuden er der ydre faktorer, såsom kost, kæledyr, medicin, antibiotika og socioøkonomi, som påvirker både årsagen og effekten (confounders). Nogle af disse ydre faktorer kan også påvirkes af psykisk sygdom (colliders). Dette gør de statistiske analyser ekstra udfordrende.

Baggrundsteori

Dysbiose, lavere forekomst af butyratproducerende bakterier og psykisk lidelse

Tarmmikrobiomet indeholder både beskyttende og potentielt skadelige bakterier. Under ideelle forhold er der en homøostatisk regulering i tarmmikrobiomet. Tarmmikrobiomet og dets homøostatiske balance kan dog blive svækket, hvis der opstår dysbiose (Degruittola et al., 2016).

Generelt kan dysbiose kategoriseres som: 1) tab af gavnlige mikrober, 2) vækst af potentielt skadelige mikrober og 3) tab af mikrobiel mangfoldighed/diversitet. Disse tre typer dysbiose udelukker ikke hinanden og forekommer ofte sammen (Degruittola et al., 2016).

Ved at analysere mikrobiotaprofiler hos forskellige populationsgrupper kan man undersøge, om der er nogle særlige mikrobielle eller dysbiotiske kendetegn ved den respektive gruppe.

Generelt finder de fleste eksisterende studier ingen homogenitet mht. lavere diversitet³ hos individer med psykiske lidelser sammenlignet med raske (Kunugi, 2021).

Ligeledes er de specifikke taxonomiske mikrobiomanalyser⁴ ret forskellige på tværs af studier⁵, men alligevel viser der sig én bemærkelsesværdig konsistens: En nedsat forekomst af butyratproducerende bakterier sammenlignet med raske kontroller. Denne reduktion i butyratproducerende bakterier er desuden forbundet med øget sværhedsgrad af symptomer relateret til de respektive psykiske lidelser (Liu et al., 2022), (Kunugi, 2021), (Kreuzer et al., 2022).

³ Diversitet måles typisk vha. hhv. α - og β -diversitet. α -diversitet kortlægger fordelingen af mikrober inden for én prøve eller én gruppe (også kaldet lokal diversitet). β -diversitet undersøger derimod forskelligheden mellem forskellige mikrobielle samfund eller mellem forskellige stikprøver (Finotello et al., 2018). β -diversitet er derfor særligt brugbart, hvis man ønsker at undersøge forskelligheden mht. diversitet mellem to grupper (case-control).

⁴ Taxonomiske mikrobiomanalyser er undersøgelser af, om der er nogle specifikke grupper af bakterier på et bestemt taksonomisk niveau, som der ses enten et karakteristisk tab af eller overdreven vækst af (jf. de tre typer af dysbiose). De taksonomiske niveauer inddeles i: Domæne (eukaryoter, arkæer eller bakterier), rige (under eukaryoter kunne det f.eks. være svampe), stamme, klasse, orden, familie, slægt og art.

⁵ De mest konsistente resultater på tværs af studier peger på en relativ øget forekomst af slægter såsom *Streptococcus*, *Lactobacillus* og *Eggerthella* og en relativ nedsat forekomst af butyratproducerende slægter såsom *Faecalibacterium* og *Coprococcus* (Grau-Del Valle et al., 2023), (Borkent et al., 2022), (Nikolova et al., 2021), (Nguyen et al., 2021), (McGuinness et al., 2022), (Chen et al., 2021), (Knudsen et al., 2021), (Korteniemi et al., 2023), (Gao et al., 2023), (Di Lodovico et al., 2021).

Butyrats antiinflammatoriske, neuromodulerende og antidepressive effekter

Butyrat er en metabolit, produceret af de førnævnte butyratproducerende bakterier. Butyrat og andre

SCFAs absorberes ved passiv diffusion eller aktiv transport fra epitelvævet i tyndtarmen og ud i blodbanen.

Ved aktiv transport sker det gennem

SMCT1 eller MCT1. SCFAs kan passere

blod-hjerne-barrieren pga. høj

forekomst af MCT1 på endotelceller i

hjernevævet hos mennesker (Siddiqui

& Cresci, 2021).

Butyrats antiinflammatoriske

egenskaber skyldes hovedsageligt 1)

HDAC⁶-hæmning, som bl.a. hæmmer

proinflammatorisk cytokinproduktion,

2) TJ⁷-genmontering, som styrker

tarmbarrieren og mindsker

inflammation, og 3) komplekse

interaktioner med GPCR'er⁸, der

bidrager til at bekæmpe

tarmbetændelse og bakterielle

infektioner (Siddiqui & Cresci, 2021).

Butyrats antidepressive egenskaber

menes hovedsageligt at skyldes 1)

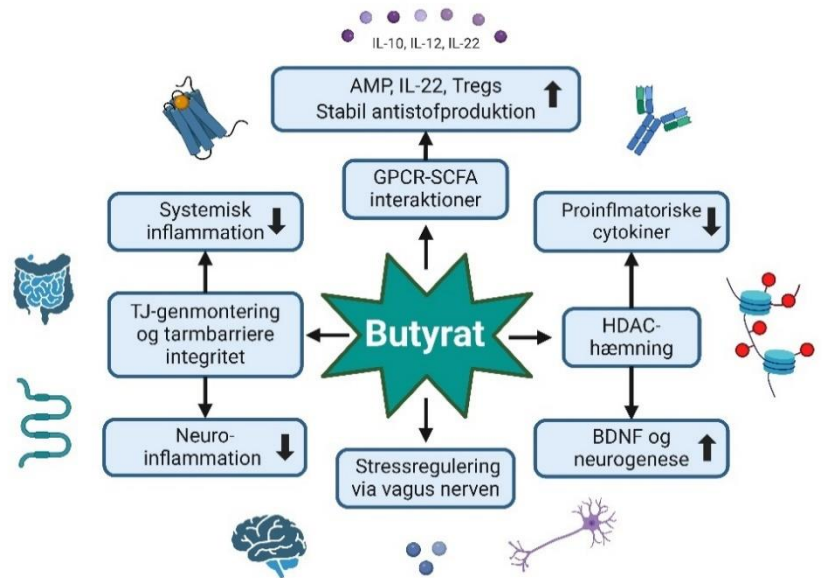
HDAC i frontal cortex og

hippocampus, hvilket øger BDNF og

neuroplasticitet, 2) styrket

slimhindebarriere, hvilket leder til

mindre systemisk inflammation og



Figur 3: Butyrats antiinflammatoriske, neuromodulerende og antidepressive effekter.

Figuren er fremstillet vha. BioRender.

GPCR-SCFA-interaktioner: Butyrat aktiverer diverse antiinflammatoriske signalkaskader ved interaktioner med GPCR'er. Forekomsten af SCFA og GPCR'er er nødvendige for at bekæmpe tarmbetændelse og bakteriel infektion, idet signalkaskaden, induceret af GPCR-SCFA-interaktionen, styrer alt fra kemokin- og cytokinfrigivelse i tarmepitelceller til aktivering af effektor-T-celler. GPCR-SCFA-interaktionen fremmer desuden produktionen af AMP'er. Øgede niveauer af butyrat fremmer IL-22 produktion fra medfødte lymfocytter i lamina propria (tyndt lag bindevæv i tarmens slimhinde-epitelvæv) gennem en kombination af HDAC-hæmning og GPCR-interaktion. IL-22 beskytter tarmen mod inflammatorisk skade ved at styre AMP'er og understøtte tarmbarrieren (Siddiqui & Cresci, 2021).

HDAC-hæmning: Butyrat forårsager HDAC-hæmning i forskellige tarmepitel og immunceller. Bl.a. hæmmes aktivering af NF- κ B, hvilket begrænser proinflammatorisk cytokinproduktion. Butyrat reducerer også udskillelsen af de proinflammatoriske cytokiner IL-6, IL-12 og nitrogenoxid i makrofager gennem HDAC-hæmning (Siddiqui & Cresci, 2021). Efter butyrat er absorberet i tyktarmen anvendes det af colonocytter til energiproduktion. Resterne, der ikke bliver omsat til energi, går i blodcirkulation og kan nå hjernen gennem blod-hjerne-barrieren. Butyrat har vist sig at fremskynde BDNF-ekspression og neurogenese i hippocampus gennem hæmning af HDAC (Suda & Matsuda, 2022).

Stressregulering via vagus nerven: Et sundt tarmmiljø har vist sig at stimulere signalerne, der går fra tarmen via vagus nerven til hjernen, hvilket undertrykker den stigning i kortikosteron og aktivering af CRH-positive neuroner i hypothalamus paraventriculære kerne, som der normalt ses ved stresspåvirkning igennem HPA-aksen. Dvs. at sensoriske signaler om tarmmikromiljøet (som potentielt kan forbedres ved en højere tilstedeværelse af butyrat) viser sig at blive overført til hjernen via vagale afferenter, hvilket resulterer i modulering af stressresponsen (Suda & Matsuda, 2022).

TJ-genmontering: TJ har til funktion at binde tarmepitelcellerne tæt sammen og styrke tarmbarrieren. Demonstrationer af TJ gør det muligt at transportere bakterier og patogener fra tarmens lumen og ud i blodcirkulation. Butyrat øger TJ-genmontering ved at inducere sigA og mindsker på den måde risikoen for at få transporteret inficerede bakterier fra tarmen ud i blodet, hvilket minimerer den systemiske inflammation (Siddiqui & Cresci, 2021). En teori bygger på, at tarmbarrieredysfunktion resulterer i en tilstrømning af intraluminale antigener/toksiner, inflammatoriske cytokiner, T-celler og makrofager til hjernen, hvilket skaber neuroinflammation via aktivering af mikroglia og astrocytter. Det understøttes af, at tarmbarrieredysfunktion blev ledsaget af betændelse hos MDD-patienter, og graden af dysfunktion korrelerede med sværhedsgraden af MDD-symptomerne. Butyrat mindsker som sagt tarmpermeabiliteten gennem bl.a. øget TJ-genmontering, hvilket kan være med til at mindske denne neuroinflammation (Suda & Matsuda, 2022).

⁶ Histon-deacetylasen (HDAC) er en klasse af enzymer, der ændrer DNA-struktur og genekspression ved at fjerne acetylgrupper fra histoner.

⁷ Tight Junctions (TJ) er proteinkomplekser mellem celler, som regulerer passagen af molekyler i epitelvæv.

⁸ En receptortype der aktiverer signaler via såkaldte G-proteiner.

reducerer risikoen for neuroinflammation, og 3) reduktion af stressresponsen gennem HPA⁹-aksen (Suda & Matsuda, 2022).

Butyrats antiinflammatoriske, neuromodulerende og antidepressive effekter er illustreret og uddybet nærmere i figur 3.

Forundersøgelser

Præ-review samt protokol til et systematisk review og metaanalyse

Der er fortsat divergens om, hvorvidt butyrattilskud kan være gavnlig til behandling af ikke-psykiatriske sygdomme, f.eks. irritabel tyktarm og diabetes. De få studier der er foretaget herom, konkluderer dog alle, med undtagelse af én (Tougaard et al., 2022), at butyrat som minimum kan have potentiale som supplerende klinisk behandling (Lewandowski et al., 2022), (Coppola et al., 2022).

Der er endnu ikke udført kliniske forsøg med butyrattilskud til patienter med psykiske lidelser. Der er dog foretaget få lovende RCT-studier bl.a. med butyratproducerende bakterier som probiotika til patienter med spiseforstyrrelser og MDD (Navarro-tapia et al., 2021), (Kreuzer et al., 2022). Der er også foretaget talrige dyreforsøg, der viser lovende antiinflammatoriske og antidepressive resultater med tilskud af butyrat (Tian et al., 2021).

Ovennævnte præ-litteraturstudie kan ses i bilag 2 eller [her](#).

Min litteratursyntese bekræfter *potentialet* for fremtidige kliniske forsøg med butyrat-tilskud men understreger først og fremmest behovet for et reelt systematisk review og metaanalyse. Derfor er jeg i samarbejde med min forskerkontakt, Troels Boldt Rømer, i gang med et systematisk review og metaanalyse. Formålet er at undersøge virkningerne af butyrat på psykometriske og adfærdsmæssige målinger i prækliniske såvel som kliniske studier. Protokollen, som er udarbejdet og registreret *a priori*, kan ses i bilag 3 eller [her](#).

Foreløbige resultater fra tværsnitsstudie

Efter jeg fik adgang til data fra DNBC og GlutenFyn (se step 1 under "Forskerspirerprojektet og dets udførelse") har jeg foretaget præ-analyser i R¹⁰. Se tabel 1 og 2 i bilag 4 for et få et overblik over variabler og antallet af individer under de forskellige kategorier i tværsnitsstudiet.

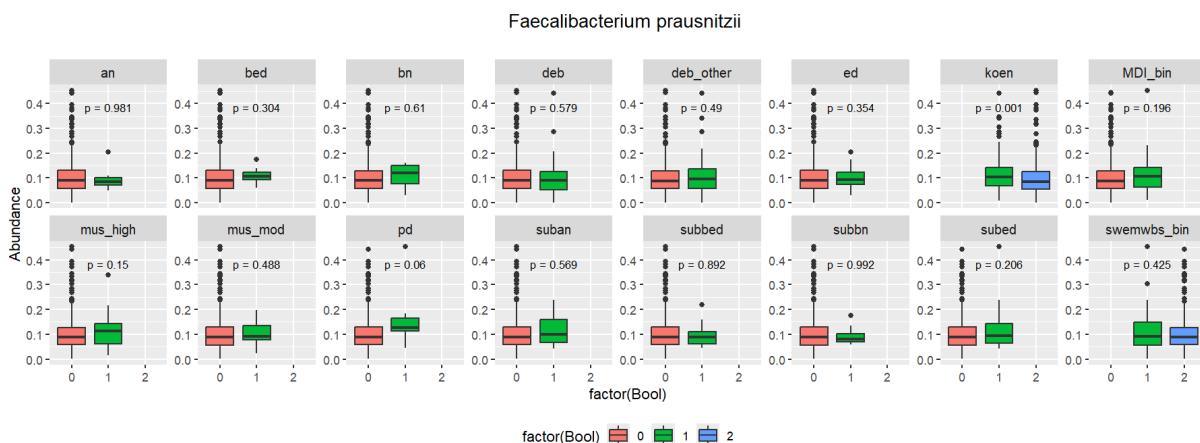
⁹ HPA-aksen er et samspil mellem hypotalamus, hypofyse-kirtlen og binyrerne, der styrer stressrespons og hormonproduktion.

¹⁰ Statistikprogram og programmeringssprog anvendt til at lave metagenomiske analyser.

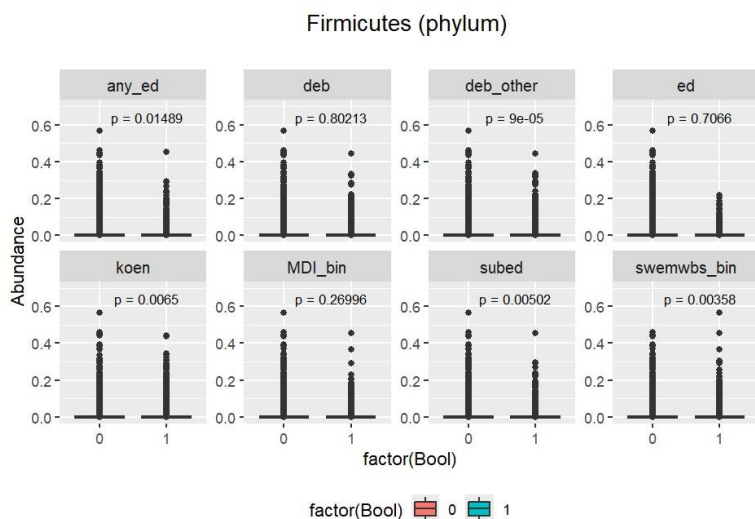
Jeg har analyseret den relative forekomst af nogle få specifikke butyratproducerende bakterier vha.

Wilcoxon Rank Sum Test. Det gælder bl.a. arten *Faecalibacterium prausnitzii* (figur 4), arten *Ruminococcus bromi* (figur 8, bilag 4), slægten *Ruminococcus* (figur 9, bilag 4) og stammen *Firmicutes* (figur 5).

Jeg har også analyseret β -diversitet, som er visualiseret vha. PCoA¹¹ og kvantificeret vha. PERMANOVA¹². På figur 6 er PCoA-analysen kørt på individer uden (=0) og med (=1) depression. I bilag 4 fremgår et par yderligere β -diversitetsanalyser for spiseforstyrrelses- og livskvalitetsvariabler (figur 10, 11, og 12).



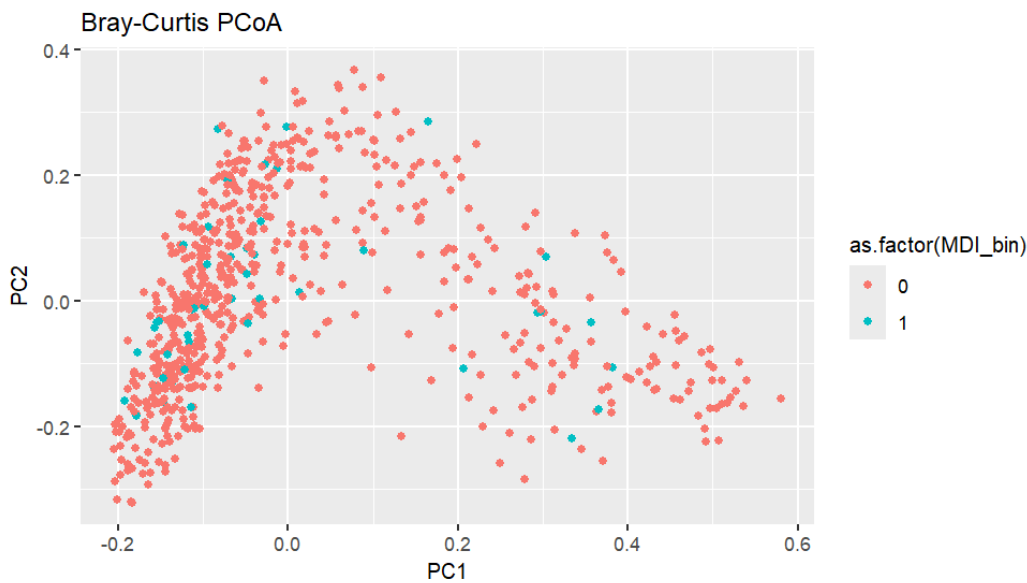
Figur 4: Grupperede boxplots med alle binære variabler (se tabel 1, bilag 4) lavet på arten *F. prausnitzii*. Der ses ingen signifikante sammenhænge, da $p > 0,05$ ved alle variablerne. Figuren er fremstillet vha. R.



Figur 5: Grupperede boxplots lavet på *Firmicutes*-stammen med fokus på de variabler med mest power (altså med flest individer), dvs. ED, subED, any_ED, DEB, DEB_other, MDI og SWEMWBS (se tabel 1, bilag 4). Der ses signifikante forskelle ved alle variablerne bort set fra variablerne DEB, ED og MDI_bin. Til trods for dette holder jeg mig fra at lave nogle konklusioner, idet der bl.a. skal justeres for multiple testing. Figuren er fremstillet vha. R.

¹¹ PCoA er en metode til at transformere en afstandsmatrix (f.eks. Bray-Curtis) til et todimensionelt sæt koordinater. Ved en Bray-Curtis PCoA vil hvert punkt repræsentere en prøve/patient og afstanden mellem punkterne deres forskellighed/diversitet.

¹² PERMANOVA er en ikke-parametrisk statistisk test, der bruges til kvantitativt at sammenligne grupper baseret på distanceformler.



Figur 6: Bray-Curtis PCoA der viser, at der ikke er nogen signifikant forskel i diversitet (p -værdi blev vha. PERMANOVA-metoden bestemt til $p=0,50$) mellem personer med svær eller moderat depression ($n=46$) sammenlignet med kontroller ($n=633$). Figuren er fremstillet vha. R.

I en præanalytisk fase uden overblik over de 836 bakterier, som jeg har data på, og hvor jeg endnu ikke har justeret for multiple testing¹³, kan jeg ikke konkludere noget på de bakterielle taxonomiske analyser (figur 4, 5, 8 og 9).

Næste step er at udarbejde et større datasæt med signifikansværdier for alle bakteriearter og alle variabler, for derefter at filtrere og sortere i de bakterier, der viser signifikante associationer med variablerne.

Det fremgår dog allerede nu, at jeg ikke finder signifikante forskelle mht. β -diversitet hos individer med psykisk sygdom eller dårlig livskvalitet sammenlignet med kontroller (figur 6, 10, 11 og 12), hvilket heller ikke var forventet ud fra den eksisterende litteratur.

Forskerspiserprojektet og dets udførelse

Forskerspiserprojektet involverer 4 steps, som beskrives nedenfor og illustreres i figur 7.

- **Step 1:** Forberedelser (februar til maj 2024)

For at opnå adgang til personfølsomt data fra DNBC og GlutenFyn er jeg tilknyttet som gæsteforsker på Institut for Folkesundhedsvidenskab, Afdeling for Epidemiologi. Jeg har indsendt en data-analyse-plan (se bilag 4 eller [her](#)) og underskrevet databehandleraftale.

¹³ Når de statistiske analyser foretages flere gange, f.eks. ved forskellige tidspunkter, for forskellige subgrupper eller med forskellige justeringer.

- **Step 2:** Præ-dataanalyse (juni til august 2024)

Efter jeg opnåede adgang til data, har jeg lavet nogle indledende dataanalyser, se "Foreløbige resultater fra tværsnitsstudiet".

- **Step 3:** Komplet metagenomisk dataanalyse (estimeret tid: 6-8 uger fuldtid under sabbatår i 2025)

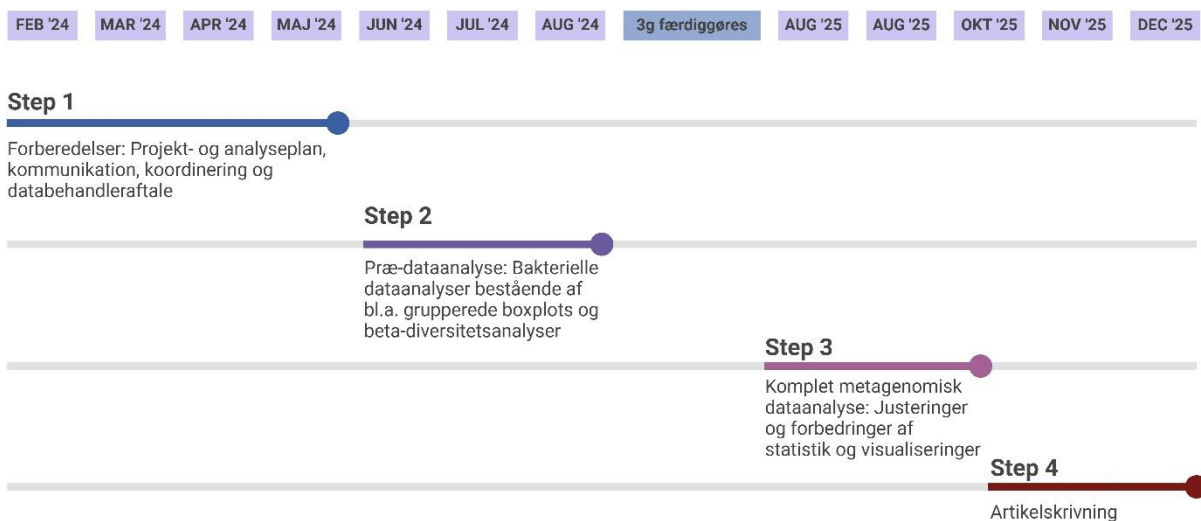
Da mine egne biostatistiske kundskaber ikke rækker længere end step 2, har jeg behov for hjælp fra en fagperson til en komplet metagenomisk dataanalyse, hvilket involverer hjælp til: 1) statistiske justeringer for relevante kovariater, 2) subgruppeanalyser, 3) visualisering i form af f.eks. co-occurrence networks og barplots, 4) optimerede og kompakte visualiseringer og evt. 5) mere avancerede funktionelle og taksonomiske analyser.

Det er dette, som budgettet (bilag 5) vil blive brugt på.

- **Step 4:** Artikelskrivning (estimeret tid: 6-8 uger fuldtid under sabbatår i 2025)

Når data er genereret og visualiseret, skal resultaterne, med sparring fra min forskerkontakt, Troels Boldt Rømer, sammenfattes i en artikel. Målet er, at forskningsresultaterne publiceres i et internationalt, fagfællebedømt tidsskrift.

Tidsplan for gennemførelsen af Forskerspirerprojektet



Figur 7: Tidsplan for gennemførelsen af Forskerspirerprojektet der viser de fire steps fra februar 2024 til december 2025. Step 1 og 2 er udført, mens step 3 og 4 endnu ikke er påbegyndt. Step 3 er den mest krævede fase, hvor budgettet (se bilag 4) forventes anvendt. Figuren er fremstillet vha. BioRender.

Konklusion og perspektivering

Min hypotese er, at Forskerspirerprojektet vil finde, at en lavere forekomst af butyratproducerende bakterier er korreleret med øget risiko for psykisk sygdom og psykiatriske symptomer. Der er metodiske begrænsninger ved tværsnitsdesignet, der gør det svært at fastlægge kausalitetsforhold.

Ved udførelsen af den komplette metagenomiske dataanalyse er der mange ukendte faktorer, der skal overvejes yderligere, bl.a. statistiske justeringer for socioøkonomiske faktorer, confounder- og collider-justeringer samt konkrete visualiseringsmetoder.

Fremtidige lignende studier kunne potentielt set øge både dybde og kompleksitet ved at inkludere flere variabler, såsom genetik (f.eks. polygene risikoscores) og metabolomics til at undersøge metabolitter i relation til tarmmikrobiomet.

Jeg håber, at projektet vil bidrage til en bedre forståelse af tarmmikrobiomets rolle ifm. psykisk lidelse, måske bidrage til at mindske stigma samt potentielt føre til nye behandlingsmetoder.

Taksigelser

En hel særlig tak skal gå til min forskerkontakt, Troels Boldt Rømer (læge og ph.d.-studerende på Psykiatrisk Center København) for den uundværlige støtte, engagement og for at tro på mig og mine projektidéer.

Desuden skal Katrine Strandberg-Larsen (lektor på Institut for Folkesundhedsvidenskab, KU) have en stor tak for at give muligheden for adgang til data fra DNBC og GlytenFyn, samt for et rigtigt godt samarbejde.

Angela Pinot de Moira (postdoc og gæsteforsker på Institut for Folkesundhedsvidenskab, KU) skal også have en stor tak for sin hjælp med koordinering, kommunikation på tværs af forskningsgrupper og for altid at være klar på at svare på mine spørgsmål.

Til sidst vil jeg også gerne takke Katrine Rønne Rostgaard (koordinator, Slotshaven Gymnasium), mine medspirer samt min familie. Tusinde tak til alle jer for jeres vedvarende støtte.

Litteraturliste

Aarhus Universitet. (n.d.). *Tværsnitsstudie*. Hentet fra <https://metodeguiden.au.dk/tvaersnitsstudie/>

Borkent, J., Ioannou, M., Laman, J. D., Haarman, B. C. M., & Sommer, I. E. C. (2022). Role of the gut microbiome in three major psychiatric disorders. *Psychological Medicine, 52*(7), 1222–1242. <https://doi.org/10.1017/S0033291722000897>

Chen, L. L., Abbaspour, A., Mkoma, G. F., Bulik, C. M., Rück, C., & Djurfeldt, D. (2021). Gut Microbiota in Psychiatric Disorders: A Systematic Review. *Psychosomatic Medicine, 83*(7), 679–692. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000959>

Coppola, S., Nocerino, R., Paparo, L., Bedogni, G., Calignano, A., Di Scala, C., de Giovanni di Santa Severina, A. F., De Filippis, F., Ercolini, D., & Berni Canani, R. (2022). Therapeutic Effects of Butyrate on Pediatric Obesity: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Network Open, 5*(12), e2244912. <https://doi.org/10.1001/JAMANETWORKOPEN.2022.44912>

Crawley, C., Sander, S. D., Nohr, E. A., Nybo Andersen, A. M., & Husby, S. (2023). Early environmental risk factors and coeliac disease in adolescents: a population-based cohort study in Denmark. *BMJ Open, 13*(11), e061006. <https://doi.org/10.1136/BMJOPEN-2022-061006>

Degruttola, A. K., Low, D., Mizoguchi, A., & Mizoguchi, E. (2016). Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflammatory Bowel Diseases, 22*(5), 1137. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000750>

Di Lodovico, L., Mondot, S., Doré, J., Mack, I., Hanachi, M., & Gorwood, P. (2021). Anorexia nervosa and gut microbiota: A systematic review and quantitative synthesis of pooled microbiological data. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 106*. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110114>

Finotello, F., Mastorilli, E., & Di Camillo, B. (2018). Measuring the diversity of the human microbiota with targeted next-generation sequencing. *Briefings in Bioinformatics, 19*(4), 679–692. <https://doi.org/10.1093/BIB/BBW119>

Gao, M., Wang, J., Liu, P., Tu, H., Zhang, R., Zhang, Y., Sun, N., & Zhang, K. (2023). Gut microbiota composition in depressive disorder: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Translational Psychiatry, 13*(1). <https://doi.org/10.1038/s41398-023-02670-5>

Grau-Del Valle, C., Fernández, J., Solá, E., Montoya-Castilla, I., Morillas, C., & Bañuls, C. (2023). Association between gut microbiota and psychiatric disorders: a systematic review. *Frontiers in Psychology, 14*. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1215674>

Jakobsen, J. C., Katakam, K. K., Schou, A., Hellmuth, S. G., Stallknecht, S. E., Leth-Møller, K., Iversen, M., Banke, M. B., Petersen, I. J., Klingenberg, S. L., Krogh, J., Ebert, S. E., Timm, A., Lindschou, J., & Gluud, C. (2017). Selective serotonin reuptake inhibitors versus placebo in patients with major depressive disorder. A systematic review with meta-analysis and Trial Sequential Analysis. *BMC Psychiatry 2017 17:1, 17*(1), 1–28. <https://doi.org/10.1186/S12888-016-1173-2>

Knudsen, J. K., Bundgaard-Nielsen, C., Hjerrild, S., Nielsen, R. E., Leutscher, P., & Sørensen, S. (2021). Gut microbiota variations in patients diagnosed with major depressive disorder—A systematic review. *Brain and Behavior, 11*(7). <https://doi.org/10.1002/brb3.2177>

- Korteniemi, J., Karlsson, L., & Aatsinki, A. (2023). Systematic review: Autism spectrum disorder and the gut microbiota. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *148*(3), 242–254. <https://doi.org/10.1111/acps.13587>
- Kreuzer, K., Reiter, A., Birkl-Töglhofer, A. M., Dalkner, N., Mörkl, S., Mairinger, M., Fleischmann, E., Fellendorf, F., Platzer, M., Lenger, M., Färber, T., Seidl, M., Birner, A., Queissner, R., Mendel, L. M. S., Maget, A., Kohlhammer-Dohr, A., Häussl, A., Wagner-Skacel, J., ... Bengesser, S. (2022). The PROVIT Study—Effects of Multispecies Probiotic Add-on Treatment on Metabolomics in Major Depressive Disorder—A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Metabolites*, *12*(8), 770. <https://doi.org/10.3390/METABO12080770/S1>
- Kunugi, H. (2021). Gut Microbiota and Pathophysiology of Depressive Disorder. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *77*(Suppl. 2), 11–20. <https://doi.org/10.1159/000518274>
- Lewandowski, K., Kaniewska, M., Karłowicz, K., Rosołowski, M., & Rydzewska, G. (2022). The effectiveness of microencapsulated sodium butyrate at reducing symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *Przegląd Gastroenterologiczny*, *17*(1), 28–34. <https://doi.org/10.5114/PG.2021.112681>
- Liu, L., Wang, H., Zhang, H., Chen, X., Zhang, Y., Wu, J., Zhao, L., Wang, D., Pu, J., Ji, P., & Xie, P. (2022). Toward a Deeper Understanding of Gut Microbiome in Depression: The Promise of Clinical Applicability. *Advanced Science*, *9*(35), 2203707. <https://doi.org/10.1002/ADVS.202203707>
- McGuinness, A. J., Davis, J. A., Dawson, S. L., Loughman, A., Collier, F., O’Hely, M., Simpson, C. A., Green, J., Marx, W., Hair, C., Guest, G., Mohebbi, M., Berk, M., Stupart, D., Watters, D., & Jacka, F. N. (2022). A systematic review of gut microbiota composition in observational studies of major depressive disorder, bipolar disorder and schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *27*(4), 1920–1935. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01456-3>
- Navarro-tapia, E., Almeida-toledano, L., Sebastiani, G., Serra-delgado, M., García-algar, Ó., & Andreu-fernández, V. (2021). Effects of Microbiota Imbalance in Anxiety and Eating Disorders: Probiotics as Novel Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(5), 1–41. <https://doi.org/10.3390/IJMS22052351>
- Nguyen, T. T., Hathaway, H., Kosciolk, T., Knight, R., & Jeste, D. V. (2021). Gut microbiome in serious mental illnesses: A systematic review and critical evaluation. *Schizophrenia Research*, *234*, 24–40. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.08.026>
- Nikolova, V. L., Hall, M. R. B., Hall, L. J., Cleare, A. J., Stone, J. M., & Young, A. H. (2021). Perturbations in Gut Microbiota Composition in Psychiatric Disorders: A Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, *78*(12), 1343–1354. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2021.2573>
- Orbe, B. E., & Benros, E. M. (2024). Infektioner og immunforsvaret. En overset rolle i udviklingen af psykiske lidelser. *Månedsskrift For Almen Praksis*, 244–249. <https://www.maanedsskriftet.dk/mpl/2024/400/13504/>
- Orlovska-Waast, S., & Benros, E. M. (2021). Autoimmune Diseases and Infections as Risk Factors for Mental Disorders. *Immuno-Psychiatry: Facts and Prospects*, 3–16. https://doi.org/10.1007/978-3-030-71229-7_1
- Rush, A. J., Trivedi, M. H., Wisniewski, S. R., Nierenberg, A. A., Stewart, J. W., Warden, D., Niederehe, G., Thase, M. E., Lavori, P. W., Lebowitz, B. D., McGrath, P. J., Rosenbaum, J. F., Sackeim, H. A., Kupfer, D. J., Luther, J., & Fava, M. (2006). Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one

or several treatment steps: A STAR*D report. *American Journal of Psychiatry*, 163(11), 1905–1917. <https://doi.org/10.1176/AJP.2006.163.11.1905/ASSET/IMAGES/R114F4.JPEG>

Siddiqui, M. T., & Cresci, G. A. M. (2021). The Immunomodulatory Functions of Butyrate. *Journal of Inflammation Research*, 14, 6025–6041. <https://doi.org/10.2147/JIR.S300989>

Statens Serum Institut. (2023, februar). *18-year follow-up*. Hentet fra <https://www.dnbc.dk/data-available/18-year-follow-up>

Suda, K., & Matsuda, K. (2022). How Microbes Affect Depression: Underlying Mechanisms via the Gut-Brain Axis and the Modulating Role of Probiotics. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3). <https://doi.org/10.3390/IJMS23031172>

Sundhedsstyrelsen. (2022). *Ambitiøse mål om et markant løft af psykiatrien over de næste 10 år - Sundhedsstyrelsen*. <https://sst.dk/da/nyheder/2022/ambitioese-maal-om-et-markant-loeft-af-psykiatrien-over-de-naeste-10-aar>

Tian, P., Zhu, H., Qian, X., Chen, Y., Wang, Z., Zhao, J., Zhang, H., Wang, G., & Chen, W. (2021). Consumption of Butylated Starch Alleviates the Chronic Restraint Stress-Induced Neurobehavioral and Gut Barrier Deficits Through Reshaping the Gut Microbiota. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.755481>

Tougaard, N. H., Frimodt-Møller, M., Salmenkari, H., Stougaard, E. B., Zawadzki, A. D., Mattila, I. M., Hansen, T. W., Legido-Quigley, C., Hörkkö, S., Forsblom, C., Groop, P. H., Lehto, M., & Rossing, P. (2022). Effects of Butyrate Supplementation on Inflammation and Kidney Parameters in Type 1 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of Clinical Medicine*, 11(13). <https://doi.org/10.3390/JCM11133573>

Vindegaard, N., Speyer, H., Nordentoft, M., Rasmussen, S., & Benros, M. E. (2021). Gut microbial changes of patients with psychotic and affective disorders: A systematic review. *Schizophrenia Research*, 234, 41–50. <https://doi.org/10.1016/J.SCHRES.2019.12.014>

Bilag 1: Anvendte forkortelser

AMP	Antimikrobielle peptider
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
CRH	Corticotropin-releasing hormone
DNBC	The Danish National Birth Cohort
GPCR	G-Protein Coupled Receptor
HDAC	Histone deacetylases
HPA	Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis
ILs	Interleukiner
MCT1	Proton-coupled monocarboxylate transporter 1
MDD	Major Depressive Disorder
NF-κB	Nuklear faktor- κ B
OSF	The Open Science Framework
PCoA	Principal Coordinate Analysis
PERMANOVA	Permutational Multivariate Analysis of Variance
RCT	Randomised Controlled Trial
SCFA	Short Chain Fatty Acid
SIgA	Secretory Immunoglobulin A
SMCT1	Sodium-coupled monocarboxylate transporter 1
SSRI	Selective Serotonin Reuptake Inhibitor
TJ	Tight Junctions
Tregs	Regulatoriske T-celler

Bilag 2: Præ-litteraturstudium

Link til forundersøgelsen som pdf foreligger [her](#).

Bilag 3: OSF-protokol til metaanalyse

Link til protokollen til metanalysen som pdf foreligger [her](#).

Vil snarest muligt også findes præ-registreret på OSF-databasen.

Bilag 4: Projektplan til Forskerspirerprojektet og foreløbige resultater

Link til min indledende projektplan til tværsnitsstudiet som pdf foreligger [her](#).

Tabel 1 og 2 herunder giver et overblik over den data, som mit tværsnitsstudie baserer sig på.

*Table 1: Denne tabel giver definitioner af forskellige variabler, der bliver brugt i undersøgelsen, herunder deres kategorier og specifikke betydninger. Forkortelserne, der bruges i tabellen, er som følgende: **koen** = køn, **an** = Anorexia Nervosa, **bn** = Bulimia Nervosa, **bed** = Binge Eating Disorder, **ed** = Eating Disorder, **pd** = Purging Disorder, **deb** = Disturbed Eating Behaviour, **mus** = Muscle Dysmorphia, **swemwbs** = Short Warwick-Edinburgh Mental Wellbeing Scale og **MDI** = Major Depression Inventory. Tabellen er bibeholdt på engelsk for ikke at risikere at forvråde ordlyden af de specifikke definitioner.*

Variable name	Categories	Definition
Koen	0: Female 1: Male	Sex of child
An	0: No 1: Yes	BMI <18.5 AND (high weight/shape concern OR at least monthly fasting OR engaged in excessive exercise)
Bn	0: No 1: Yes	BMI ≥18.5 AND weekly binge eating AND (weekly purging OR engaged in excessive exercise)
Bed	0: No 1: Yes	Weekly binge eating AND experiencing abdominal pain AND guilt AND absence of purging AND fasting AND excessive exercise
ed	0: No 1: Yes	Threshold of ED total: AN, BN OR BED
suban	0: No 1: Yes	BMI ≥18.5 to <19.5 AND (high weight/shape concern OR at least monthly fasting OR engaged in excessive exercise)
subbn	0: No 1: Yes	BMI ≥18.5 AND at least monthly binge eating AND (at least monthly purging OR engaged in excessive exercise)
subbed	0: No 1: Yes	At least monthly binge eating AND experiencing abdominal pain AND guilt AND absence of purging AND fasting AND excessive exercise

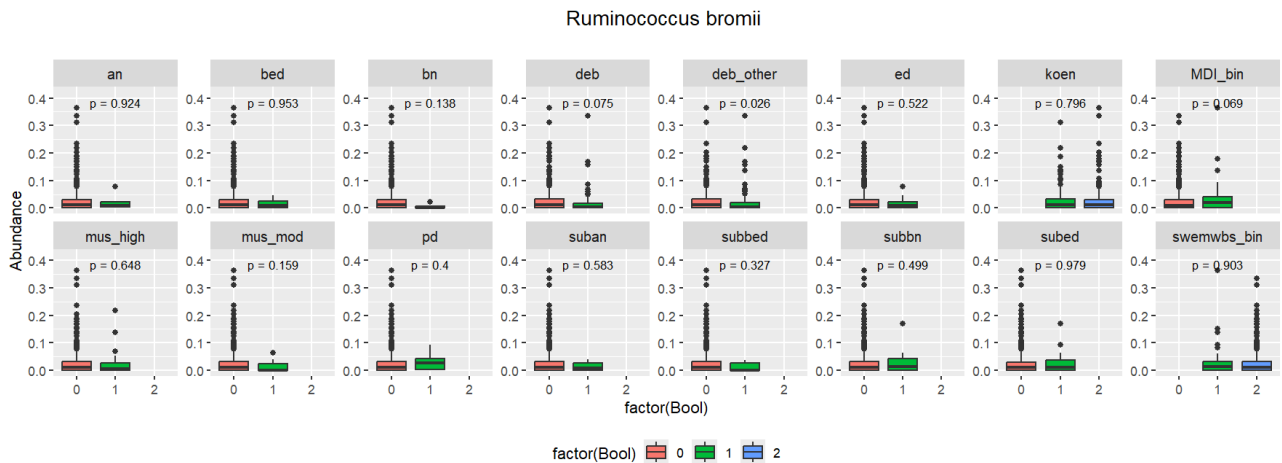
pd	0: No 1: Yes	Weekly purging AND binge eating absent less than monthly
subed	0: No 1: Yes	Threshold of subED total: SUBAN, SUBBN, SUBBED OR PD
anyed	0: No 1: Yes	Threshold of ED and subED total: AN, BN, BED, SUBAN, SUBBN, SUBBED OR PD
deb	0: No 1: Yes	Specified DEBs: At least monthly binge eating, at least monthly purging, engaged in excessive exercise OR at least monthly fasting
mus_high	0: No 1: Yes	High muscularity concern AND (any use of steroid OR weekly use of supplements)
mus_mod	0: No 1: Yes	At least moderate muscularity concern AND (any use of steroid OR at least monthly use of supplements) where high muscle dysmorphia cases are excluded
deb_other	0: No 1: Yes	Muscle dysmorphia high, muscle dysmorphia at least moderate OR specified DEBs
swemwbs_m	Score from 7-35 points	A higher score indicates a higher level of mental well-being
swemwbs_cat	1: Probable depression or anxiety 2: Possible depression or anxiety 3: No signs of depression or anxiety	Shah et al. 2020 have identified three categories in WEMWBS, corresponding to cut-off values on validated scales for mental illness. 7-17 points indicate probable depression or anxiety (category 1), 18-20 points indicate possible depression or anxiety (category 2) and >21 points indicate no signs of depression or anxiety (category 3)
swemwbs_bin	0: No signs of depression or anxiety 1: Probable or possible depression or anxiety	The binary variable of SWEMWBS is divided into 7-20 points (probable or possible depression or anxiety) and >21 points (no signs of depression or anxiety)
sum_mdi	Score from 0-50 points	A higher score indicates more severe symptoms of depression
MDI_cat	1: No depressive symptoms 2: Mild depressive symptoms 3: Moderate depressive symptoms 4: Severe depressive symptoms	The categorical variable of MDI is divided into four groups indicating severe (31-50 points), moderate (26-30 points), mild (21-25 points) and no depressive symptoms (0-20 points)
MDI_bin	0: Mild/no depressive symptoms 1: Severe/moderate depressive symptoms	The binary variable of MDI is divided into 26-50 points indicating depressive symptoms (severe/moderate) and a score range from 0-25 points indicating no depressive symptoms (mild/no)

Tabel 2: Antal personer i studiet fordelt på de forskellige kategorier, der blev skitseret i tabel 1. Det totale antal individer er 679.

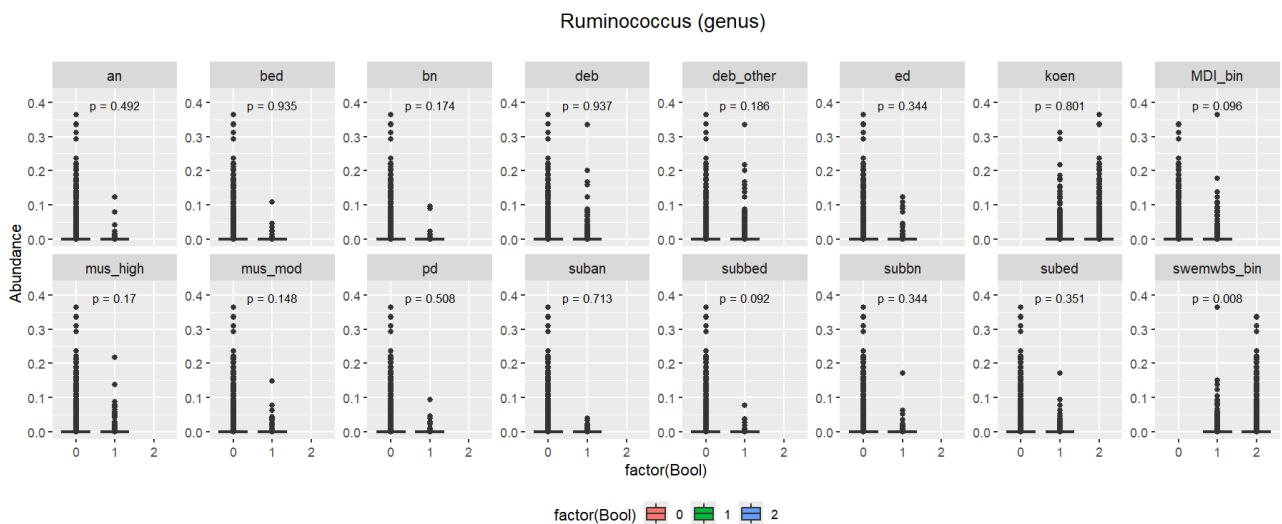
Variable name	Variable type	0	1	2	3	4
koen	Binary	458	221			
an	Binary	672	7			
bn	Binary	675	4			
bed	Binary	669	10			
ed	Binary	658	21			
suban	Binary	673	6			
subbn	Binary	671	8			
subbed	Binary	670	9			
pd	Binary	672	7			
subed	Binary	649	30			
any_ed	Binary	628	51			
deb	Binary	609	70			
mus_high	Binary	641	38			
mus_mod	Binary	663	16			
deb_other	Binary	555	124			
swemwbs_m	Continuous					
swemwbs_cat	Categorical		16	59	604	
swemwbs_bin	Binary	604	75			
sum_mdi	Continuous					
MDI_cat	Categorical		573	52	27	27
MDI_bin	Binary	633	46			

Jeg vedlægger på næste side et par supplerende grupperede boxplots, som er blevet lavet på den relative forekomst af nogle specifikke butyratproducerende bakterier.

Under afsnittet "Foreløbige resultater fra tværsnitsstudie" præsenterede jeg boxplots for *Faecalibacterium prausnitzii* (figur 4) og for stammen *Firmicutes* (figur 5). På næste side fremgår arten *Ruminococcus bromi* (figur 8) og slægten *Ruminococcus* (figur 9).

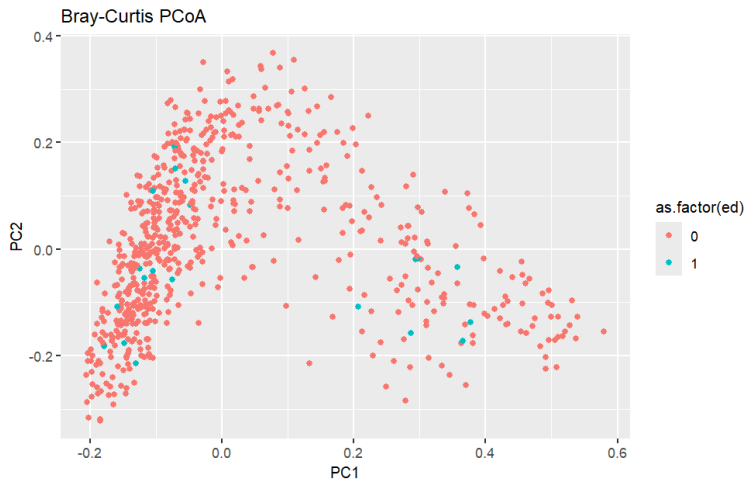


Figur 8: Grupperet boxplot med alle binære variabler lavet på arten *R. bromii*. Der ses kun én signifikant sammenhæng, og det er for *deb_other* ($p=0,026$). Figuren er fremstillet vha. R.

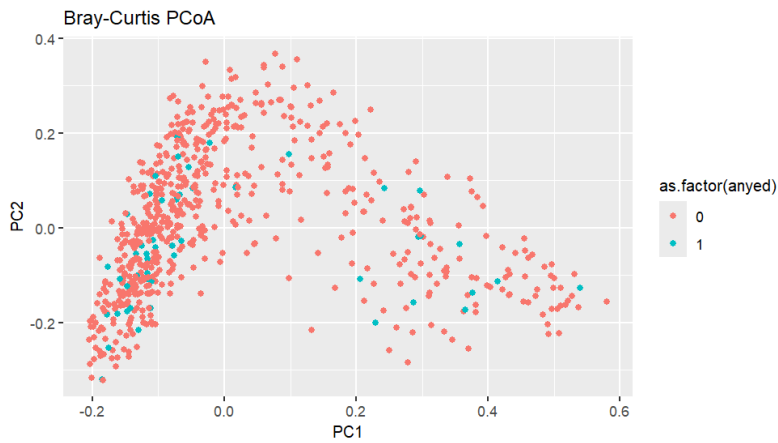


Figur 9: Grupperet boxplot med alle binære variabler lavet på slægten *Ruminococcus*. Der ses kun én signifikant sammenhæng, og det er for *swemwbs_bin* ($p=0,008$). Figuren er fremstillet vha. R.

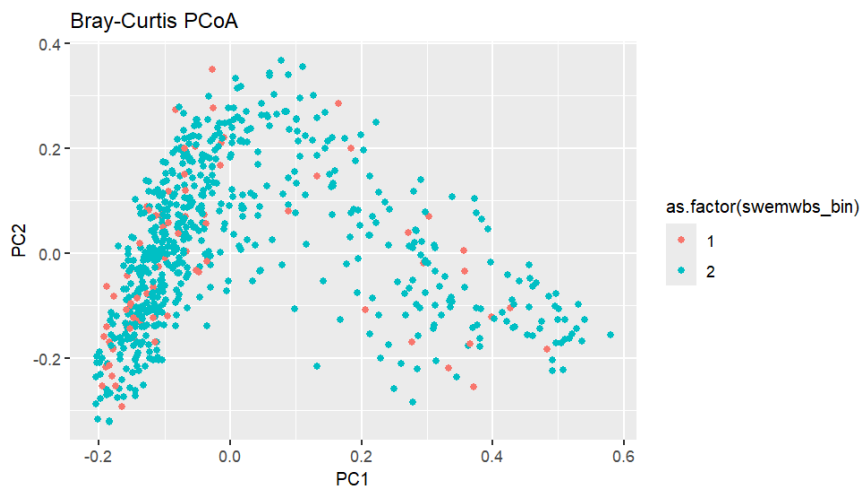
β -diversitet visualiseres vha. PCoA og kvantificeret vha. PERMANOVA. I afsnittet "Foreløbige resultater fra tværnsitsstudie" præsenterede jeg PCoA for MDD vs. ikke-MDD (figur 6). På næste side præsenteres analyserne også for ED vs. ikke-ED (figur 10), anyED vs. ikke-anyED (figur 11) samt *swemwbs_bin* (figur 12).



Figur 10: Bray-Curtis PCoA der indikerer, at der ikke er en signifikant forskel i diversitet ($p=0,399$) mellem individer med ED ($n=21$) sammenlignet med kontroller ($n=658$).



Figur 11: Bray-Curtis PCoA der indikerer, at der ikke er en signifikant forskel i diversitet ($p=0,597$) mellem individer med ED eller subED ($n=51$) sammenlignet med kontroller ($n=628$).



Figur 12: Bray-Curtis PCoA der indikerer, at der ikke er en signifikant forskel i diversitet ($p=0,357$) mellem personer med sandsynlig eller mulig depression eller angst ($n=75$) sammenlignet med kontroller ($n=604$).

Bilag 5: Budget til Forskerspirerprojektet

Herunder har jeg skitseret, hvordan de 20.000 kr. kan bruges til at fuldføre step 3 (figur 7):

Tabel 3: Budget

Udgifter	Kommentar	Samlede udgifter
Honorering/timeløn til biostatistikere	25 timer á 500 kr./time (estimat) for hjælp til dataanalyse og statistiske modeller	12.500 kr.
Ny computer med 32 GB RAM og 1 TB SSD	Vil lette processen ifm. håndteringen af data og metagenomiske analyser (har oplevet at min PC brød sammen under mine præ-analyser)	5.000 kr.
Uforudsete udgifter	Til uforudsete udgifter såsom software, licenser, ekstra analysetimer eller booking af mødelokale	2.500 kr.
I alt		20.000 kr.

Det er vigtigt at pointere, at jeg vil gennemføre mit studie uafhængigt af ovenstående budget, dog ville en økonomisk håndsregning lette processen markant.