Projekt Forskerspirer 2026	
Titel	Når tarmbakterier kommunikerer med hjernen: Kan kortkædede fedtsyrer påvirke hjerneceller direkte ved fysiologiske koncentrationer?
Identifikationskode	CV073
Navn	Joël Jonavon Dennis Schenk-Schoenhals
Gymnasium	Odense Katedralskole
Fagområde	SUND

SYNOPSIS · PROJEKT FORSKERSPIRER

Når tarmbakterier kommunikerer med hjernen

Kan kortkædede fedtsyrer påvirke hjerneceller direkte ved fysiologiske koncentrationer?



Indholdsfortegnelse

Indledning **3**

Formål og afgrænsning **4**

Formål 4

Afgrænsning 4

Teori, problemformulering og metodevalg **5**

Tarm-hjerne-aksen 5

Aktuel forskning i MGB 6

Short-chain fatty acids 6

Effekter i hjernen 7

HDAC inhibition og genekspression 7

Koncentrationsspørgsmålet 8

Massespektrometri 8

Proteomics og liquid chromatography 9

Tandem mass spectrometry (MS/MS) 9

Relativ kvantificering 10

Projektets udførelse **10**

Budget **12**

Perspektivering **12**

Konklusion **13**

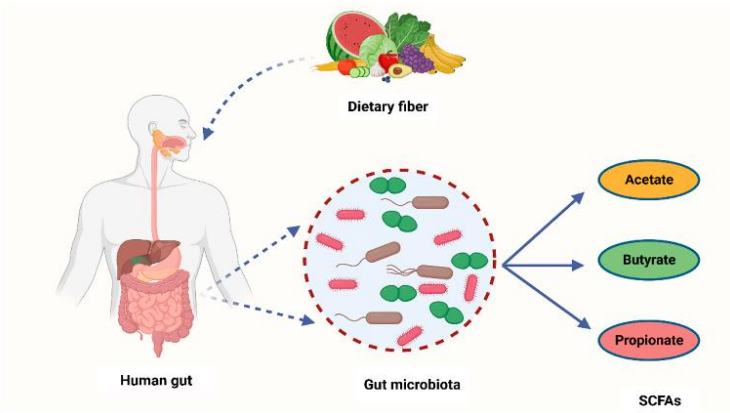
Anerkendelse **13**

Litteraturliste **14**

Indledning

En af de allermest udbredte kostanbefalinger er, at man skal spise sine havregryn. Det er dog de færreste, der ved, hvorfor det anbefales. Dette spørgsmål blev udgangspunktet for mit projekt, og svaret endte med at ligge et uventet sted: tarmen, og dermed de billioner af mikroorganismer, der lever i den.

Havregryn, og mange andre fuldkornsprodukter og bælgfrugter, indeholder kostfibre. Mennesket kan dog kun fordøje disse kostfibre i et begrænset omfang via maven og tarmen. I stedet fermenteres de af bakterierne i colon, hvilket, blandt andre ting, producerer kortkædede fedtsyrer (short-chain fatty acids = SCFAs) som acetat, propionat og butyrat (se figur 1). Disse molekyler stabiliserer tarmbarrieren, modulerer immunsystemet og har en indvirkning på den hormonelle signalering af metabolismen (Dalile et al., 2019). På mere overraskende vis, er de dog også forbundet med hjernen. Kommunikationen mellem tarmens mikrobiom og nervesystemet kaldes for *tarm-hjerne-aksen*, hvilket er et af de mest hurtigtvoksende områder inden for moderne biomedicin.



Figur 1 viser forløbet fra indtagelse af kostfibre til fermentering og dannelse af SCFAs. (Fra Miya et al., 2023)

Dog er informationerne omkring SCFAs indvirkning på hjernen stadig foreløbige, og mekanismerne bag er hidtil uopklarede. Det er især uklart, om SCFAs har en direkte indvirkning på hjerneceller eller virker indirekte via immunforsvaret, hormoner eller vagusnerven. Samtidigt er mange studier udført med koncentrationer, der er markant højere end dem, der findes i hjernen. Dette gør det uklart, om resultaterne er biologisk relevante.

Jeg valgte dette emne, da det sammenbinder en hverdagslig kostanbefaling med fundamental molekylærbiologi, og fordi spørgsmålet om direkte indvirkning kan besvares eksperimentelt.

Formål og afgrænsning

Projektet har jeg valgt at basere på følgende problemstilling: *Kan short-chain fatty acids ved fysiologisk relevante koncentrationer direkte påvirke proteinsammensætningen i hjerneceller?*

Formål

Formålet med mit projekt er at undersøge, om SCFAs direkte kan påvirke proteinsammensætningen i hjerneceller ved fysiologisk relevante koncentrationer. Min hypotese i forbindelse med formålet er, at SCFAs kan ændre mængden af bestemte proteiner i hjerneceller, inklusive proteiner, der er involveret i signalering, ved de lave koncentrationer i hjernen.

Afgrænsning

Inden for det omfattende område om tarm-hjerne-aksen, vil mit projekt indsnævre sit fokus til et spørgsmål: den direkte indflydelse af individuelle SCFAs på neurale celler i koncentrationer, der er relevante for hjernen. Acetat, propionat og butyrat adskilles og testes separat, da sammenblanding ville gøre det umuligt at tilskrive en effekt til et specifikt molekyle. Koncentrationerne vil følge nogle allerede undersøgte områder i cerebrospinalvæsken, som menes at være mikromolære størrelser (O'Riordan et al., 2022), frem for millimolære størrelser, der har været hyppige i tidligere studier.

Forsøget måler relative ændringer i den samlede mængde af proteiner frem for post-translationelle modifikationer, da en analyse af post-translationelle modifikationer forudsætter flere trin og øger omkostningerne markant. Hurtige ændringer i signalering som phosphorylering eller histonacetylering detekteres ikke. Effekten vil kun være synlig, hvis proteinmængden ændres.

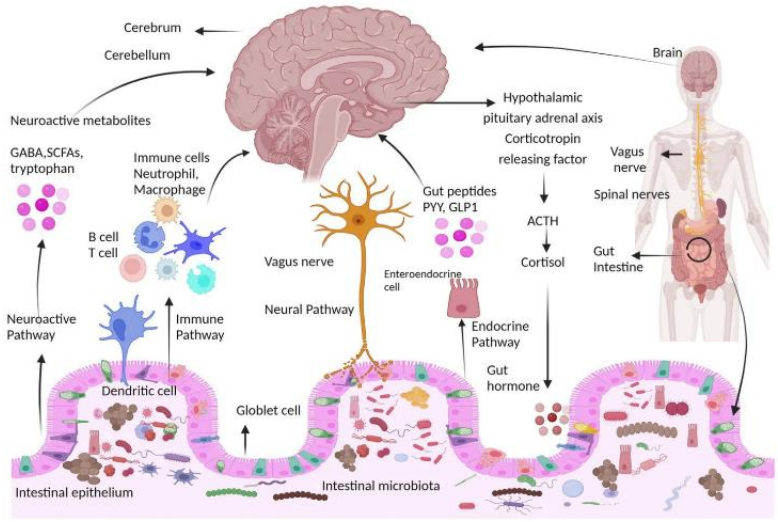
Andre områder af tarm-hjerne forskningen indgår som baggrundsviden. Disse områder inkluderer andre mikrobielle metabolitter, og de indirekte SCFA-veje via immunmodulering, signalering via vagusnerven, tarmhormoner og serotonin. Disse er fravalgt, da de forudsætter in vivo-forsæg eller systemer, der ikke ligger inden for budgettet. Projektet kan påvise en direkte effekt i en cellekultur, men ikke entydigt konkludere noget om indvirkningerne i den levende hjerne, hvor immunforsvaret, hormoner og blod-hjerne-barrieren også er faktorer.

Teori, problemformulering og metodevalg

For at besvare problemformuleringen, skal det først forstås, hvordan tarmen og hjernen kommunikerer, hvordan SCFAs dannes og transporteres op til hjernen, og hvorfor koncentrationerne af disse fedtsyrer er afgørende i forsøget.

Tarm-hjerne-aksen

Den menneskelige tarm indeholder en enorm population af bakterier og andre mikroorganismer, kaldet tarmmikrobiomet. Gennem deres metabolisme producerer disse mikroorganismer en lang række forskellige metabolitter, som er mindre molekyler, der dannes, når næringsstoffer nedbrydes. Nogle af disse metabolitter kan have indvirkninger på organer uden for tarmen, inklusive hjernen (Cryan et al., 2019).



Figur 2 viser de fire hovedsagelige kommunikationsveje mellem tarmen og hjernen. (Fra Ullah et al., 2023)

Kommunikationen mellem tarm-mikrobiomet og centralnervesystemet, som består af hjernen og rygmarven, kaldes microbiota-gut-brain axis (MGB) eller tarm-hjerne-aksen. Denne kommunikation er bidirektionel (se figur 2), og det tænkes, at den fungerer gennem flere forskellige, parallelle veje. Disse inkluderer vagusnerven, en kranienerve, der forbinder tarmen direkte med hjernestammen, og det enteriske nervesystem, som er et netværk af nerveceller i tarmvæggen. Immunforsvaret og hormoner udskilt af tarmen er også en del af denne kommunikation (Cryan et al., 2019; Cao et al., 2025).

Ændringer i tarmmikrobiomet er blevet associeret med depression, angst, autisme og neurodegenerative sygdomme som Alzheimers og Parkinsons sygdom. Mange af disse fund er korrelationer, men de underliggende mekanismer er stadig stort set ukendte (Cao et al., 2025).

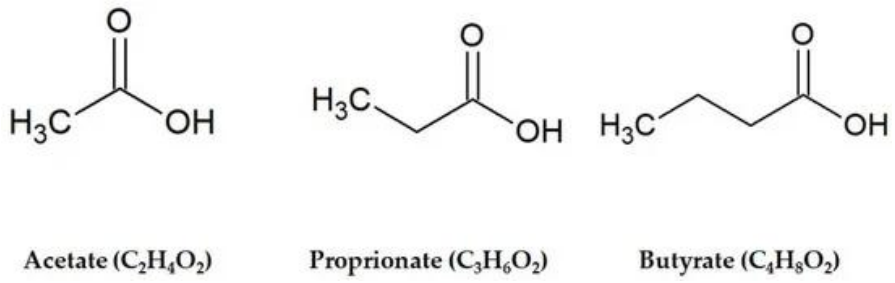
Aktuel forskning i MGB

En stor del af forskningsfeltet har fokuseret på serotonin - et signalmolekyle, som fungerer som neurotransmitter i hjernen og som et hormon i tarmen. Mere end 90% af kroppens serotonin produceres i tarmen af enterokromaffine celler, som er specialiserede hormonproducerende celler i tarmvæggen, hvis serotoninproduktion reguleres af tarmbakterier og deres metabolitter (Yano et al., 2015; Wang et al., 2020).

Blandt de mange bakterielle metabolitter, der studeres, er short-chain fatty acids nogle af de mest rigelige og bedst beskrevede.

Short-chain fatty acids

SCFAs er fedtsyrer med færre end 6 carbonatomer. En fedtsyre er en carbonkæde med en carboxylgruppe (-COOH) i den ene ende. De tre mest væsentlige SCFAs er acetat, propionat og butyrat (se figur 3), med henholdsvis 2, 3 og 4 carbonatomer, som tilsammen udgør mere end 95% af SCFAs i tarmen (Cao et al., 2025).



Figur 3 viser molekyle- og strukturformler for eddikesyre (acetic acid), propionsyre (propanoic acid) og smørsyre (butyric acid), der findes i kroppen som acetat, propionat og butyrat. (Fra Annunziata et al., 2020)

SCFAs produceres primært i tyktarmen (caecum og colon), hvor tarmbakterier fermenterer kostfibre. Fermentering er den bakterielle, anaerobe (uden ilt) nedbrydning af carbohydrater. Da mennesker mangler de nødvendige enzymer for at nedbryde de fleste kostfibre selv, ankommer de unedbrudte til colon og tjener til mad for bakterierne. Acetat, propionat og butyrat er produceret i cirka et 3:1:1 forhold (Cao et al., 2025).

De fleste SCFAs absorberes af kolonocytter, som er cellerne, der er på indersiden af colon. Optagelsen finder hovedsageligt sted gennem monocarboxylate transporters (MCTs), som er transportproteiner i cellemembranen, der transporterer små molekyler med netop én carboxylgruppe. Butyrat er kolonocytternes primære energikilde, hvorfor det meste butyrat opbruges i tarmvæggen. De overskydende SCFAs transporteres til leveren via portåren, hvor meget propionat metaboliseres, mens acetat passerer igennem og opnår den højeste koncentration i blodet (Cao et al., 2025). Kun en lille del af hver SCFA når resten af kroppen: cirka 36% af acetat, 9% af propionat og 2% af butyrat (Lan et al., 2024).

SCFAs kan passere blood-brain-barrier (BBB) via MCTs (Cao et al., 2025). BBB er et lag af tæt sammenbundede celler, der sidder på indersiden af blodårer i hjernen, og kontrollerer, hvilke stoffer der kan trænge fra blodet ind i hjernevævet.

SCFAs påvirker celler gennem to hovedmekanismer. Den første: De binder til G protein-coupled receptors (GPCRs), som er receptorer i cellemembranen, der videreformidler et signal ind i cellen, når et molekyle bindes. De mest velkendte SCFA-receptorer er FFAR2, FFAR3 (Free fatty acid receptor) og HCAR2 (hydroxycarboxylic acid receptor) (Stilling et al., 2016). FFAR3 findes i det perifere nervesystem og BBB, hvorimod tilstedeværelsen af disse receptorer på hjerneceller stadig debatteres (Cao et al., 2025). Den anden: SCFAs kan trænge ind i cellen og inhiberer histone deacetylaser (HDACs), som er enzymer, der regulerer, hvor tæt DNA pakkes. Butyrat er den stærkest virkende af de tre SCFAs i denne sammenhæng (Cao et al., 2025).

Effekter i hjernen

SCFAs menes at virke direkte og indirekte på hjernen (Dalile et al., 2019). Indirekte kan de aktivere vagusnerven, stimulere tarmhormoner, dæmpe betændelse gennem immunforsvaret og påvirke mikroglia - hjernens egne immunceller (Erny et al., 2015; Dalile et al., 2019). Direkte kan SCFAs, der trænger igennem BBB, have en effekt på hjerneceller - hovedsageligt ved at inhibere HDACs.

HDAC inhibition og genekspression

I cellekernen er DNA snoet omkring proteiner, der hedder histoner. Hvor tæt DNA'et pakkes, reguleres af post-translationelle modifikationer (PTMs). Disse er kemiske grupper bundet til et protein, efter det syntetiseres. Histon acetyltransferaser (HATs) binder acetylgrupper, som løsner sammenpakningen, og gør gener nemmere at læse. Histon deacetylaser (HDACs) fjerner dem igen (Cao et al., 2025). Når butyrat inhiberer HDACs, fremmes histonacetylering og genekspressionen ændres (Davie, 2003). Denne mekanisme er grunden til, at eksperimentet måler proteinmængder. Ændret genekspression kan føre til en ændring i proteinmængder, men ikke nødvendigvis. Forsøget måler ikke på HDAC aktivitet eller histonacetylering direkte. Yderligere kan en ændring også skyldes andre mekanismer som receptorer eller cellens stofskifte.

Evidensen er stadig foreløbig og kommer hovedsageligt fra dyrestudier. Det er desuden fortsat uklart, hvilke signaleringsveje SCFAs bruger inde i celler (Lan et al., 2024; Cao et al., 2025).

Koncentrationsspørgsmålet

Koncentrationen af SCFAs mindskes hurtigt fra tarmen til hjernen. I portåren, er koncentrationen af acetat, propionat og butyrat henholdsvis ca. $260\ \mu M, 30\ \mu M, 30\ \mu M$. I det perifere blod er de endnu lavere, da propionat og butyrat i høj grad opbruges af leveren (Dalile et al., 2019). Kun små mængder når hjernen. Tabel 1 giver en idé af koncentrationer af SCFAs forskellige steder i kroppen.

Område	Acetat	Propionat	Butyrat	Kilde
Portåre	$260\ \mu M$	$30\ \mu M$	$30\ \mu M$	Dalile et al., 2019
Perifere blod	$25 - 250\ \mu M$	$1{,}4 - 13{,}4\ \mu M$	$0{,}5 - 14{,}2\ \mu M$	Dalile et al., 2019
CSF	$0 - 171\ \mu M$	$0 - 5\ \mu M$	$0 - 2{,}8\ \mu M$	O'Riordan et al., 2022

Tabel 1: Rapporterede SCFA-koncentrationer i portåren, det perifere blod og CSF.

Cerebrospinal fluid (CSF), der omgiver hjernen og rygmarven, bruges ofte som estimat for koncentrationer i hjernen. CSF-værdierne i tabel 1 kommer fra en databasesammenstilling (Human Metabolome Database; O'Riordan et al., 2022). Koncentrationerne fra forsøget har derfor et usikkert grundlag. Derudover er det usikkert, om CSF reflekterer koncentrationerne i hjerneceller. Forsøgets koncentrationer er valgt i den øvre del af CSF-intervallerne for at øge chancen for en observerbar effekt uden at overstige det fysiologiske niveau.

I eksperimentelle studier bruges SCFAs ofte i koncentrationer langt over disse niveauer (O'Riordan et al., 2022). I cellekulturer bruges butyrat ofte i millimolære koncentrationer (Cao et al., 2025), som er flere hundrede gange højere end værdierne i CSF. Der er fundamentale forskelle mellem effekterne af butyrat ved fysiologiske koncentrationer og ved de høje doser, der bruges i hjerneforskning (Stilling et al., 2016).

Det forbliver derfor uklart, om de direkte effekter, der observeres, også forekommer ved koncentrationer, der faktisk forekommer i CSF.

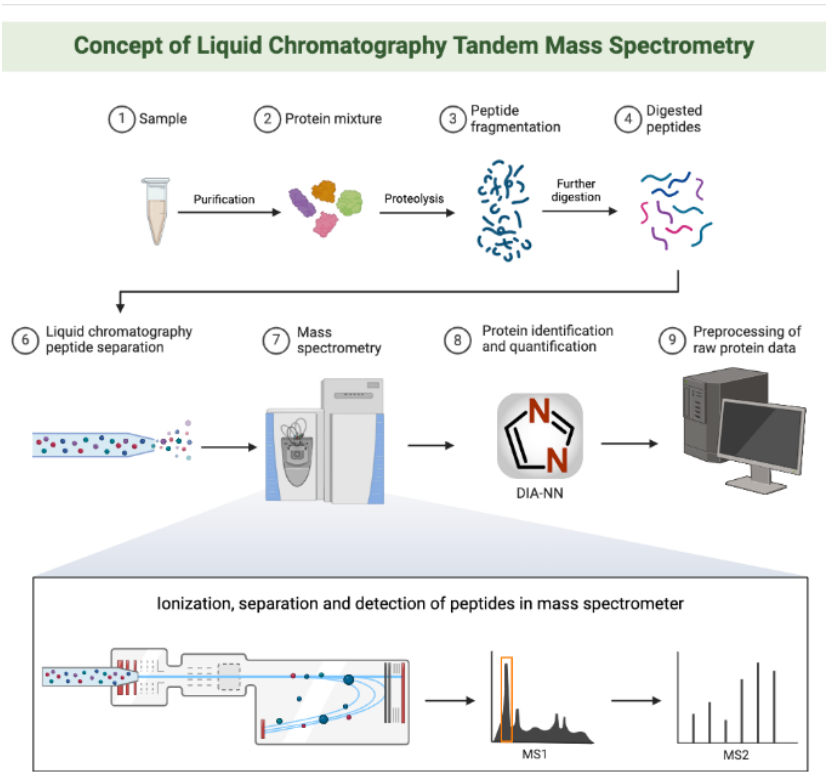
Massespektrometri

Massespektrometri (MS) er en analytisk metode, der identificerer molekyler, ved at måle deres masse. Mere præcist måler instrumentet masse-til-ladnings-forholdet *(m/z)* af molekyler, som gives en elektrisk ladning (Aebersold & Mann, 2003).

Proteomics og liquid chromatography

Proteomics er studiet af alle proteinerne i celler eller væv. I bottom-up proteomics skæres proteinerne først i mindre dele, kaldet peptider, af enzymet trypsin (Zhang, Fonslow, et al., 2013). Peptiderne separeres derefter af liquid chromatography (LC), i overensstemmelse med, hvor hydrofobe, de er (se figur 4). Søjlen indeholder en hydrofob, stationær fase af C18 molekyler, og peptiderne vaskes ud med en blanding af vand og den organiske solvent acetonitril. I takt med, at proportionerne af acetonitril gradvist øges, vil hydrofile peptider forlade søjlen, og de hydrofobe peptider senere. I enden af søjlen, gives peptiderne en positiv ladning via electrospray ionisation, og sprøjtes ind i massespektrometeret (Ho et al., 2003). Proteomics udvælges frem for metoder som Western blot og qPCR, som kun måler på molekyler, der er udvalgt på forhånd (Chen et al., 2024). Med MS, kan tusindvis af proteiner måles ad gangen, uden på forhånd at vide, hvilke der ændrer sig (Zhang, Fonslow, et al., 2013).

Tandem mass spectrometry (MS/MS)

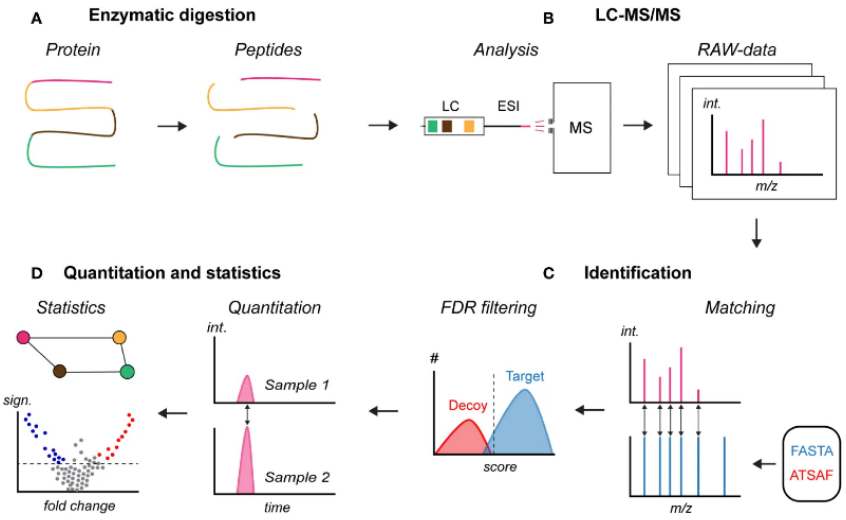


Figur 4 viser det overordnede koncept af LC-MS/MS. Trin 1-4 forklares i afsnittet om forsøgets udførelse. (Fra Meineche, u.å.)

Massen af et peptid alene er ikke nok til at identificere det, da mange forskellige peptider kan have næsten samme masse. Massespektrometeret måler derfor dette i to trin. Først måles *m/z* af intakte peptider (MS1). Udvalgte peptider adskilles derefter til fragmenter via kollisioner med en inert gas, og fragmenterne måles (MS2; se figur 4). Peptiderne skilles oftest ved peptidbindingerne, så fragmenter afviger med masserne af enkelte aminosyrer. Dette lader et program afkode sekvensen fra spektret. Ved at sammenligne sekvenser med en database af kendte proteiner, kan programmer identificere, hvilke proteiner, peptiderne kommer fra (Ho et al., 2003; Zhang, Fonslow, et al., 2013).

Relativ kvantificering

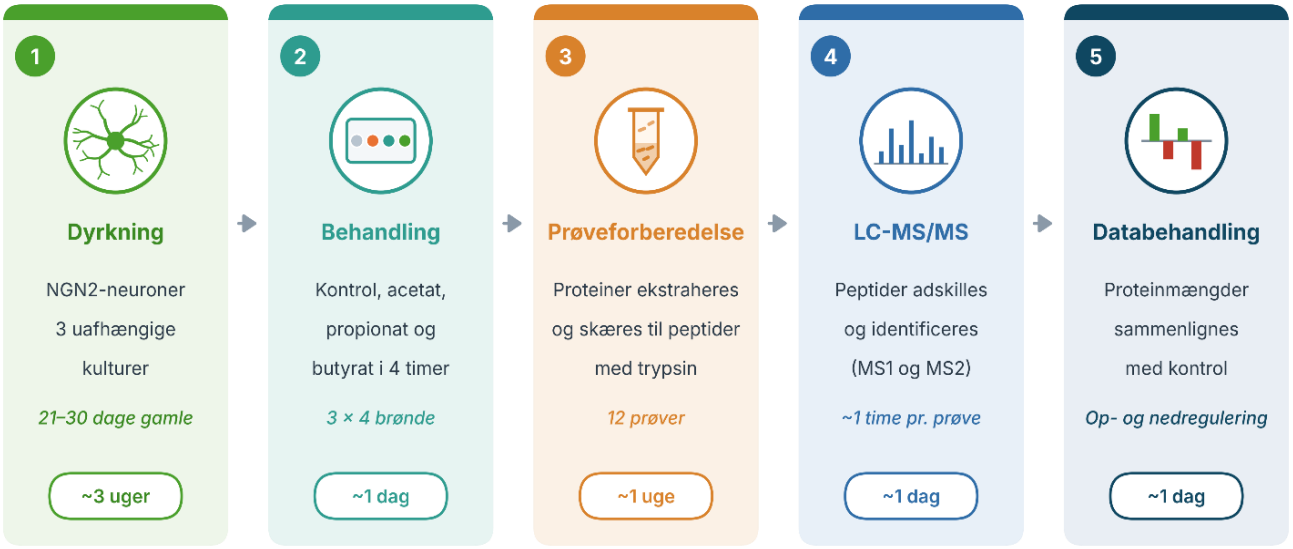
I label-free quantification estimeres mængden af hvert protein fra signalintensiteten af peptiderne. Ved at sammenligne intensiteter af behandlede og ubehandlede celler, kan den relative ændring i proteiner udregnes (Cox et al., 2014; se figur 5). Mindre ændringer er dog sværere at detektere pålideligt end større, hvilket kan være en begrænsning, da effekterne kan være små ved de fysiologiske koncentrationer.



Figur 5 viser LC-MS/MS konceptet med mere fokus på databehandling. Trin C viser identifikationen via databaser og trin D viser sammenligningen, så op- og nedregulering kan ses. (Fra Bennike, 2023)

Projektets udførelse

Et overordnet overblik over eksperimentets udførelsestrin ses på Figur 6.



Figur 6 viser projektets udførelsestrin. (Illustrationens grafik er udarbejdet med et AI-værktøj på baggrund af mit eget forsøgsdesign).

Tabel 2 viser faserne mere detaljeret.

Fase	Tidsestimat	Udførelse
Gro cellekultur	~3 uger	Stamceller med NGN2 genet gros. Der laves 3 cellekulturer, som hver især fordeles i fire brønde: kontrol, acetat, propionat og butyrat. Doxycycline tilføjes til mediet, som aktiverer NGN2-transkription. NGN2 er en transkriptionsfaktor, som aktiverer adskillige gener, der driver cellen til at blive et neuron. Stamceller, der ikke konverteres til neuroner, fjernes, hvilket giver en næsten ren neuronkultur.
Behandling med SCFAs	~1 dag	Neuronkulturerne behandles med SCFAs, tilsat som natrium-acetat, natrium-propionat og natrium-butyrat, når NGN2 neuronerne er 21-30 dage gamle. Anvendte koncentrationer: (Fra tabel 1) Kontrolforsøg: $0\ \mu M$ **Acetat:** $100\ \mu M$ **Propionat:** $5\ \mu M$ **Butyrat:** $2{,}5\ \mu M$ 4 timer efter tilsætning, høstes cellerne på is.
Præparation af prøven	~1 uge	Proteinerne ekstraheres, hvorved der dannes 12 prøver i alt. 3 til hver SCFA og 3 kontrol. Disulfid broer i proteinerne spaltes med Dithiothreitol (DTT) og frie -SH grupper blokeres med iodacetamid (alkylering) så disulfidbindinger ikke genskabes. Trypsin (enzym) kløver proteinerne efter lysin (K) og arginin (R), som resulterer i mange peptider.
LC-MS/MS	~1 dag	MS bruger ~1 time til hver prøve. Peptider separeres på en C18 søjle (eluering) med en gradient af $90\ \%$ acetonitril i $0{,}1\ \%$ myresyre ved et $300\,\frac{nL}{min}$ flow. Analyseres efterfølgende via tandem MS.
Databehandling	~1 dag	Peptider identificeres fra deres *m/z* og fragment-ioner via computerprogram automatisk databasesøgning. Relative mængder af proteiner estimeres ved arealet under elueringsprofilen (tidsintervallet, hvor peptidet elueres) og sammenlignes med kontrol.
Total	**~5 uger**	

Tabel 2: Eksperimentel udførelse: faser, tidsestimat og praktiske detaljer.

Modellen med NGN2-celler vælges, fordi den gør brug af humane neuroner, som er næsten ensartede. Dette mindsker forskellen mellem prøver (Zhang, Pak, et al., 2013). Neuronerne er dog kun af én type og er uden gliaceller. Med kun 3 replikater til kun ét tidspunkt, er eksperimentet hovedsageligt eksplorativt.

Budget

Nedenstående tabel præsenterer de forventede omkostninger til de redskaber, der anvendes i forbindelse med eksperimentets gennemførelse.

Udgift	**Pris**
NGN2-celler	6.000-7.000 kr
Medie til NGN2-celler	1.000-2.000 kr
Proteinekstraktion (lysisbuffer)	300 kr
Fordøjelse (trypsin)	1.000 kr
LC-søjle (selvpakket)	200 kr
Buffere til LC-MS	500 kr
Total	**9.000-11.000 kr**

Tabel 3: Budget for tilkøb til udførelse af eksperimentet. Her dækkes kun forbrugsvarer. Instrumenter og instrumenttid stilles til rådighed (oplyst af forskerkontakt)

Perspektivering

Resultaterne af dette projekt kan danne grundlaget for videre forskning i feltet. Op- eller nedregulerede proteiners funktion kan identificeres, hvilket viser, hvilke signaleringsveje og cellulære processer, SCFAs har indflydelse på. Hvis proteinet har en væsentlig funktion, kan det undersøges nøjagtigere ved, for eksempel, at undersøge PTMs som phosphorylering.

Yderligere ville det være vigtigt at gentage forsøget med modeller, som inkluderer en BBB, hvilket kan bringe omstændighederne af forsøget tættere på den levende hjerne.

I et bredere perspektiv kunne en øget forståelse af bakterielle metabolitters effekt på hjerneceller hjælpe med at forklare, hvordan diæt - herunder kostfibre - kan have en indflydelse på hjernefunktion. På længere sigt kan projektet bidrage til forskning i neurodegenerative sygdomme.

Konklusion

Med afsæt i hypotesen forventes det, at behandling med SCFAs ved fysiologisk relevante koncentrationer, munder ud i målbare ændringer i proteinmængder af nogle proteiner i neuroner. Dette kan fremkomme som både op- og nedregulering i relation til kontrolprøven. Da butyrat er den stærkeste HDAC hæmmer af de tre SCFAs, er det plausibelt, at den har den tydeligste effekt. Ændringerne forventes dog at være små, da koncentrationerne er meget lave.

Hvis disse ændringer i proteinmængder kan observeres, ville det indikere, at SCFAs direkte kan påvirke hjerneceller ved fysiologiske koncentrationer. Kan ingen ændringer observeres, udelukkes direkte effekter ikke, da ændringer kan være for små til at måles, eller ramme PTMs eller proteinaktivitet frem for proteinmængder. Uanset om forsøget giver et positivt eller negativt svar, vil resultatet bidrage til at svare på, om SCFAs kan påvirke hjerneceller direkte ved fysiologiske koncentrationer.

Anerkendelse

Tusind tak til professor Martin Røssel Larsen, ph.d., forskningsleder af Martin Røssel Larsen Lab, Biomedicinsk Massespektrometri og Systembiologi, Institut for Biokemi og Molekylær Biologi, Syddansk Universitet, for inspiration og viden til udarbejdelsen af mit teoriafsnit, samt udformning af forsøget og information om omkostninger.

Tak til Morten Petersen, lærer i engelsk og samfundsfag, og projektvejleder for Projekt Forskerspirer på Odense Katedralskole for introduktion til Projekt Forskerspirer og vedvarende engagement og støtte, samt arrangering af skriveworkshops og informationsmøder.

Endeligt, tak til Susann Schenk, ph.d., Pharmaceutical Sciences / Biochemistry and Molecular Biology, University of Freiburg, for idé-sparring og korrekturlæsning.

Litteraturliste

Aebersold, R., & Mann, M. (2003). Mass spectrometry-based proteomics. *Nature*, *422*(6928), 198–207. https://doi.org/10.1038/nature01511

Annunziata, G., Arnone, A., Ciampaglia, R., Tenore, G. C., & Novellino, E. **(2020).** Fermentation of Foods and Beverages as a Tool for Increasing Availability of Bioactive Compounds. Focus on Short-Chain Fatty Acids. *Foods (Basel, Switzerland)*, *9*(8), 999. https://doi.org/10.3390/foods9080999

Bennike, T. B. (2023). Advances in proteomics: characterization of the innate immune system after birth and during inflammation. *Frontiers in immunology*, *14*, 1254948. https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1254948

Cao, Q., Shen, M., Li, R., Liu, Y., Zeng, Z., Zhou, J., Niu, D., Zhang, Q., Wang, R., Yao, J., & Zhang, G. **(2025).** Elucidating the specific mechanisms of the gut-brain axis: the short-chain fatty acids-microglia pathway. *Journal of Neuroinflammation, 22(133)*. https://doi.org/10.1186/s12974-025-03454-y

Chen, N., Xu, X., Guo, Y., Zhao, M., Li, Y., Zhou, T., Zhang, X., Gao, J., Zhu, F., Guo, C., Shi, Y., Wang, Q., Wu, W., Zhang, L., & Li, Y. **(2024).** Brain Short-Chain Fatty Acids Induce ACSS2 to Ameliorate Depressive-Like Behavior via PPARγ-TPH2 Axis. *Research (Washington, D.C.)*, *7*, 0400. https://doi.org/10.34133/research.0400

Cox, J., Hein, M. Y., Luber, C. A., Paron, I., Nagaraj, N., & Mann, M. **(2014).** Accurate proteome-wide label-free quantification by delayed normalization and maximal peptide ratio extraction, termed MaxLFQ. *Molecular & cellular proteomics : MCP*, *13*(9), 2513–2526. https://doi.org/10.1074/mcp.M113.031591

Cryan, J. F., O'Riordan, K. J., Cowan, C. S. M., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., Codagnone, M. G., Cussotto, S., Fulling, C., Golubeva, A. V., Guzzetta, K. E., Jaggar, M., Long-Smith, C. M., Lyte, J. M., Martin, J. A., Molinero-Perez, A., Moloney, G., Morelli, E., Morillas, E., O'Connor, R., … Dinan, T. G. **(2019).** The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiological reviews*, *99*(4), 1877–2013. https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018

Dalile, B., Van Oudenhove, L., Vervliet, B., & Verbeke, K. **(2019).** The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, *16*(8), 461–478. https://doi.org/10.1038/s41575-019-0157-3

Davie, J. R. (2003). Inhibition of histone deacetylase activity by butyrate. *The Journal of nutrition*, *133*(7 Suppl), 2485S–2493S. https://doi.org/10.1093/jn/133.7.2485S

Erny, D., Hrabě de Angelis, A. L., Jaitin, D., Wieghofer, P., Staszewski, O., David, E., Keren-Shaul, H., Mahlakoiv, T., Jakobshagen, K., Buch, T., Schwierzeck, V., Utermöhlen, O., Chun, E., Garrett, W. S., McCoy, K. D., Diefenbach, A., Staeheli, P., Stecher, B., Amit, I., & Prinz, M. **(2015).** Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nature neuroscience*, *18*(7), 965–977. https://doi.org/10.1038/nn.4030

Ho, C. S., Lam, C. W., Chan, M. H., Cheung, R. C., Law, L. K., Lit, L. C., Ng, K. F., Suen, M. W., & Tai, H. L. **(2003).** Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. *The Clinical biochemist. Reviews*, *24*(1), 3–12. PMID 18568044.

Lan, Z., Tang, X., Lu, M., Hu, Z., & Tang, Z. **(2024).** The role of short-chain fatty acids in central nervous system diseases: A bibliometric and visualized analysis with future directions. *Heliyon*, *10*(4), e26377. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26377

Meineche, J. (u.å.). Liquid chromatography tandem mass spectrometry using DIA-NN. *BioRender*. Lokaliseret 25/10/**2026** på: https://www.biorender.com/template/liquid-chromatography-tandem-mass-spectrometry-using-dia-nn

Miya, T. V., Marima, R., Damane, B. P., Ledet, E. M., & Dlamini, Z. **(2023).** Dissecting Microbiome-Derived SCFAs in Prostate Cancer: Analyzing Gut Microbiota, Racial Disparities, and Epigenetic Mechanisms. *Cancers*, *15*(16), 4086. https://doi.org/10.3390/cancers15164086

O'Riordan, K. J., Collins, M. K., Moloney, G. M., Knox, E. G., Aburto, M. R., Fülling, C., Morley, S. J., Clarke, G., Schellekens, H., & Cryan, J. F. **(2022).** Short chain fatty acids: Microbial metabolites for gut-brain axis signaling. *Molecular and cellular endocrinology*, *546*, 111572. https://doi.org/10.1016/j.mce.2022.111572

Stilling, R. M., van de Wouw, M., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. **(2016).** The neuropharmacology of butyrate: The bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? *Neurochemistry international*, *99*, 110–132. https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.06.011

Ullah, H., Arbab, S., Tian, Y., Liu, C. Q., Chen, Y., Qijie, L., Khan, M. I. U., Hassan, I. U., & Li, K. **(2023).** The gut microbiota-brain axis in neurological disorder. *Frontiers in neuroscience*, *17*, 1225875. https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1225875

Wang, Y., Sims, C. E., & Allbritton, N. L. **(2020).** Enterochromaffin Cell-Enriched Monolayer Platform for Assaying Serotonin Release from Human Primary Intestinal Cells. *Analytical chemistry*, *92*(18), 12330–12337. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02016

Yano, J. M., Yu, K., Donaldson, G. P., Shastri, G. G., Ann, P., Ma, L., Nagler, C. R., Ismagilov, R. F., Mazmanian, S. K., & Hsiao, E. Y. **(2015).** Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*, *161*(2), 264–276. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.047

Zhang, Y., Fonslow, B. R., Shan, B., Baek, M. C., & Yates, J. R., 3rd **(2013).** Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics. *Chemical reviews*, *113*(4), 2343–2394. https://doi.org/10.1021/cr3003533

Zhang, Y., Pak, C., Han, Y., Ahlenius, H., Zhang, Z., Chanda, S., Marro, S., Patzke, C., Acuna, C., Covy, J., Xu, W., Yang, N., Danko, T., Chen, L., Wernig, M., & Südhof, T. C. **(2013).** Rapid single-step induction of functional neurons from human pluripotent stem cells. *Neuron*, *78*(5), 785–798. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.05.029