

Utjecaj crijevne mikroflore na zdravlje organizma

Čalić, Kristijan

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:290950>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-03**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

UTJECAJ CRIJEVNE MIKROFLORE NA ZDRAVLJE ORGANIZMA

ZAVRŠNI RAD

KRISTIJAN ČALIĆ

Matični broj: 93

Split, rujan 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

UTJECAJ CRIJEVNE MIKROFLORE NA ZDRAVLJE ORGANIZMA

ZAVRŠNI RAD

KRISTIJAN ČALIĆ

Matični broj: 93

Split, rujan 2021.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF FOOD TECHNOLOGY

THE IMPACT OF THE GUT MICROBIOTA ON HUMAN HEALTH

BACHELOR THESIS

KRISTIJAN ČALIĆ
Identification number: 93
Split, September 2021

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Zavod za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na 6., elektroničkoj, sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu održanoj 15. i 16. prosinca 2020.

Mentor: prof. dr. sc. Tea Bilušić

UTJECAJ CRIJEVNE MIKROFLORE NA ZDRAVLJE ORGANIZMA

Kristijan Čalić, 93

Sažetak:

Pretpostavlja se da je ljudski gastrointestinalni trakt koloniziran od strane više od 10^{14} bakterija. Mnoge bakterijske vrste prilagodile su se uvjetima crijevne mikroflore čovjeka koja predstavlja bogat izvor nutrijenata. Uvjeti prisutni u crijevima izravno se odražavaju na pojavu i razvoj pojedinih mikrobnih vrsta. Ljudi i njihova crijevna mikroflore zajedno su se razvili tijekom vremena i stoga ne čudi njihov simbiotski odnos koji pruža obostrane koristi. Neki čimbenici poput geografskog podrijetla, dobi, genetike, tipa porođaja, dojenja, stresa, pušenja, prehrane i uporabe lijekova i probiotika mogu značajno djelovati na brojnost i raznolikost crijevne mikroflore. Prehrana i način života spadaju u ključne okolišne čimbenike crijevne mikroflore. Brojna dosadašnja saznanja ukazuju na povezanost crijevne mikroflore i različitih bolesti kod ljudi, uključujući metaboličke, imunološke i neurološke bolesti. Brojna oboljenja kod ljudi povezana su s disbiozom crijevne mikroflore. To nam ukazuje na najbitniju ulogu crijevne mikroflore u ljudskom zdravlju, a ona se odnosi na povezivanje svih dijelova tijela u cjelovit i organiziran biološki sustav. Bitno je istaknuti da povezanost disbioze crijevne mikroflore i nekih oboljenja može biti i uzročna i posljedična. Kod liječenja određenih bolesti, polako se uvode potencijalne prehrambene strategije, koje mijenjaju sastav crijevne mikroflore (probiotici i prebiotici). Daljnji razvoj naprednog 16S ribosomalnog genskog sekvencioniranja RNA i drugih tehnika omogućit će još bolji uvid u mikroorganizme, koji nastanjuju naša crijeva, i njihova djelovanja na zdravlje ljudi.

Ključne riječi: crijevna mikroflore, čovjek, zdravlje, utjecaj

Rad sadrži: 55 stranice, 10 slika, 0 tablica, 107 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|--------------------------------------|-------------|
| 1. doc. dr. sc. Danijela Skroza | predsjednik |
| 2. izv. prof. dr. sc. Ivica Blažević | član |
| 3. prof. dr. sc. Tea Bilušić | član-mentor |

Datum obrane: 23. rujna 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, Split.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Department of food technology

Undergraduate program of Food Technology

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food Technology

Thesis subject was approved by the Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology University of Split session no. 6 held on December 15th and 16th 2020

Mentor: Full Professor Tea Bilušić, PhD

THE IMPACT OF THE GUT MICROBIOTA ON HUMAN HEALTH

Kristijan Čalić, 93

Summary:

The human gastrointestinal tract is thought to have been colonized by more than 10^{14} bacteria. Many bacterial species have adapted to the conditions of the human intestinal microflora, which is a rich source of nutrients. The conditions present in the intestines directly affect the appearance and development of certain microbial species. Humans and their intestinal microflora have evolved together over time and thus it is not surprising that their symbiotic relationship provides mutual benefits. Some factors such as geographical origin, age, genetics, type of birth, breastfeeding, stress, smoking, diet, and use of drugs and probiotics can significantly affect the abundance and diversity of intestinal microflora. Diet and lifestyle are among the key environmental factors of the intestinal microflora. Numerous findings to date indicate an association between intestinal microflora and various diseases in humans, including metabolic, immunological, and neurological diseases. Many diseases in humans are associated with dysbiosis of the intestinal microflora. This points us to the most important role of the intestinal microflora in human health, and that is that it connects all parts of the body into a complete and organized biological system. It is important to point out that the association between intestinal microflora dysbiosis and some diseases can be both causal and consequential. In the treatment of certain diseases, potential dietary strategies are slowly being introduced, which change the composition of the intestinal microflora (probiotics and prebiotics). Further development of advanced 16S ribosomal gene sequencing of RNA and other techniques will provide even better insight into the microorganisms that inhabit our intestines and their effects on human health.

Key words: gut microbiota, human, health, impact

Thesis contains: 55 pages, 10 figures, 0 tables, 107 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|---|--------------|
| 1. Assistant Professor Danijela Skroza, PhD | chair person |
| 2. Associate Professor Ivica Blažević, PhD | member |
| 3. Full Professor Tea Bilušić, PhD | supervisor |

Defense date: September 23, 2021

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Chemistry and Technology, University of Split, Ruđera Boškovića 35, Split.

ZADATAK

- Opisati općenita svojstva crijevne mikroflore čovjeka
- Opisati utjecaj crijevne mikroflore na bolesti i zdravlje čovjeka
- Opisati općenita svojstva probiotika i prebiotika i njihove zdravstvene učinke kod ljudi

SAŽETAK

Pretpostavlja se da je ljudski gastrointestinalni trakt koloniziran od strane više od 10^{14} bakterija. Mnoge bakterijske vrste prilagodile su se uvjetima crijevne mikroflore čovjeka koja predstavlja bogat izvor nutrijenata. Uvjeti prisutni u crijevima izravno se odražavaju na pojavu i razvoj pojedinih mikrobnih vrsta. Ljudi i njihova crijevna mikroflora zajedno su se razvili tijekom vremena i stoga ne čudi njihov simbiotski odnos koji pruža obostrane koristi. Neki čimbenici poput geografskog podrijetla, dobi, genetike, tipa porođaja, dojenja, stresa, pušenja, prehrane i uporabe lijekova i probiotika mogu značajno djelovati na brojnost i raznolikost crijevne mikroflore. Prehrana i način života spadaju u ključne okolišne čimbenike crijevne mikroflore. Brojna dosadašnja saznanja ukazuju na povezanost crijevne mikroflore i različitih bolesti kod ljudi, uključujući metaboličke, imunološke i neurološke bolesti. Brojna oboljenja kod ljudi povezana su s disbiozom crijevne mikroflore. To nam ukazuje na najbitniju ulogu crijevne mikroflore u ljudskom zdravlju, a ona se odnosi na povezivanje svih dijelova tijela u cjelovit i organiziran biološki sustav. Bitno je istaknuti da povezanost disbioze crijevne mikroflore i nekih oboljenja može biti i uzročna i posljedična. Kod liječenja određenih bolesti, polako se uvode potencijalne prehrambene strategije, koje mijenjaju sastav crijevne mikroflore (probiotici i prebiotici). Daljnji razvoj naprednog 16S ribosomalnog genskog sekvencioniranja RNA i drugih tehnika omogućit će još bolji uvid u mikroorganizme, koji nastanjuju naša crijeva, i njihova djelovanja na zdravlje ljudi.

SUMMARY

The human gastrointestinal tract is thought to have been colonized by more than 10^{14} bacteria. Many bacterial species have adapted to the conditions of the human intestinal microflora, which is a rich source of nutrients. The conditions present in the intestines directly affect the appearance and development of certain microbial species. Humans and their intestinal microflora have evolved together over time and thus it is not surprising that their symbiotic relationship provides mutual benefits. Some factors such as geographical origin, age, genetics, type of birth, breastfeeding, stress, smoking, diet, and use of drugs and probiotics can significantly affect the abundance and diversity of intestinal microflora. Diet and lifestyle are among the key environmental factors of the intestinal microflora. Numerous findings to date indicate an association between intestinal microflora and various diseases in humans, including metabolic, immunological, and neurological diseases. Many diseases in humans are associated with dysbiosis of the intestinal microflora. This points us to the most important role of the intestinal microflora in human health, and that is that it connects all parts of the body into a complete and organized biological system. It is important to point out that the association between intestinal microflora dysbiosis and some diseases can be both causal and consequential. In the treatment of certain diseases, potential dietary strategies are slowly being introduced, which change the composition of the intestinal microflora (probiotics and prebiotics). Further development of advanced 16S ribosomal gene sequencing of RNA and other techniques will provide even better insight into the microorganisms that inhabit our intestines and their effects on human health.

Sadržaj

UVOD	1
1. CRIJEVNA MIKROFLORA ČOVJEKA.....	2
1.1. SASTAV	3
1.2. RAZNOVRSNOST I DINAMIKA.....	5
1.3. RAZLIKE I SLIČNOSTI.....	6
1.4. CRIJEVNA MIKROFLORA KOD RAZLIČITIH DOBNIH SKUPINA.....	6
1.4.1. Crijevna mikroflora u ranom razvoju	6
1.4.2. Crijevna mikroflora kod starijih osoba	8
1.5. BIOGEOGRAFIJA CRIJEVNE MIKROFLORE	9
1.6. ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA RAZVOJ CRIJEVNE MIKROFLORE	10
1.6.1. Geografija	10
1.6.2. Genetika	11
1.6.3. Porođaj	12
1.6.4. Dojenje	14
1.6.5. Upotreba lijekova	15
1.6.6. Prehrana	16
1.6.6.1. Zapadnjačka prehrana.....	18
1.6.6.2. Mediteranska prehrana.....	18
1.6.7. Pušenje	19
1.6.8. Stres	20
2. UTJECAJ CRIJEVNE MIKROFLORE NA ZDRAVLJE I BOLESTI ČOVJEKA	24
2.1. METABOLIČKE BOLESTI	24
2.1.1. Pretilost	24

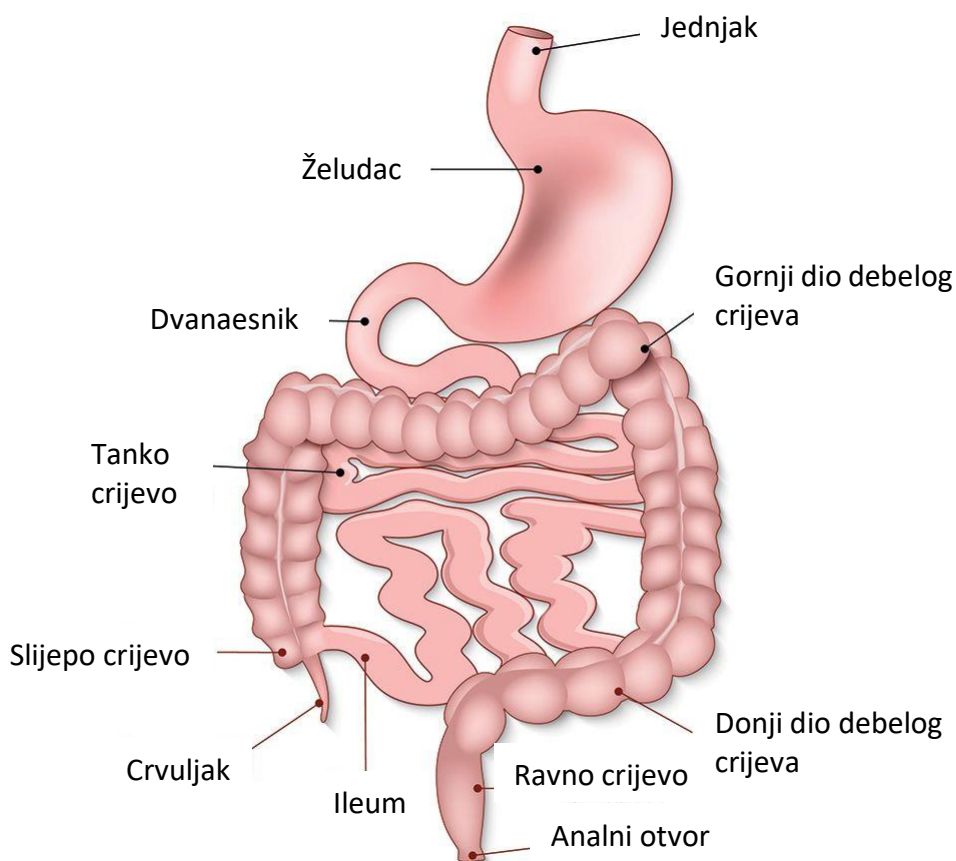
2.1.2. Tip 2 dijabetes	26
2.1.3. Kardiovaskularne bolesti	27
2.1.4. Bolesti jetre	28
2.2. BOLESTI IMUNOLOŠKOG SUSTAVA	29
2.2.1. Upalne bolesti crijeva	30
2.2.2. Sindrom iritabilnog crijeva	31
2.2.3. Tip 1 dijabetes	32
2.3. NEUROLOŠKE BOLESTI	33
2.3.1. Autizam	33
2.3.2. Multipla skleroza	34
3. PROBIOTICI I PREBIOTICI	35
3.1. PROBIOTICI	35
3.1.1. Općenito	35
3.1.2. Mehanizam djelovanja probiotika	37
3.1.3. Utjecaj probiotika na sastav crijevne mikroflore	38
3.1.4. Zdravstveni učinci probiotika	38
3.2. PREBIOTICI	39
3.2.1. Općenito	39
3.2.2. Mehanizam djelovanja prebiotika i njihov utjecaj na zdravlje.....	40
4. ZAKLJUČCI	43
5. LITERATURA	44

UVOD

Mnoge bakterijske vrste prilagodile su se uvjetima crijeвне mikroflоре čovjeka. Uvjeti prisutni u crijevima izravno se odražavaju na pojavu i razvoj pojedinih mikrobnih vrsta. Ljudi i njihova crijevna mikroflora zajedno su se razvili tijekom vremena i stoga ne čudi njihov simbiotski odnos koji pruža obostrane koristi. Pretpostavlja se da je ljudski gastrointestinalni trakt koloniziran od strane više od 10^{14} bakterija. Taj broj je veći za 10 redova veličine od ukupnog broja stanica u ljudskom tijelu. Kontinuirani rast velikog broj oboljelih ljudi od različitih metaboličkih, imunoloških i neuroloških bolesti, između ostalog, potaknuo je daljnji razvoj mikrobiologije i njene primjene kod ljudi. Otkrivene tehnike poput 16S ribosomalnog RNA genskog sekvencioniranja i metagenomske analize omogućile su otkrivanje svojstava i raznolikosti mikrobnih vrsta koje nastanjuju crijeva pojedinaca. Crijeva nastanjuju mikroorganizmi različitih svojstava i vrsta. Na pojavu i razvoj nekih od njih, važan utjecaj imaju čimbenici poput geografskog podrijetla, dobi, genetike, tipa porođaja, dojenja, stresa, pušenja, prehrane i uporabe lijekova i probiotika. U ovom radu obrađene su sljedeće teme: crijevna mikroflora čovjeka, utjecaj crijeвне mikroflоре na zdravlje i bolesti čovjeka, probiotici i prebiotici te njihova uloga u očuvanju i zaštiti ljudskog zdravlja.

1. CRIJEVNA MIKROFLORA ČOVJEKA

Ljudski gastrointestinalni trakt (slika 1) dom je velikom broju različitih mikroorganizama. Oni tvore složeni mikrobni sustav koji ima najveću gustoću u distalnom području gastrointestinalnog trakta (GIT-a) tj. debelog crijeva. Ovaj crijevni ekosustav smatra se ključnim za održavanje ljudskog zdravlja. Narušavanje sastava crijevne mikroflore može imati za posljedicu lakše obolijevanje od određenih bolesti, ali i pogoršavanje postojećih oboljenja poput raka debelog crijeva, autoimunih, alergijskih i metaboličkih bolesti, ali i bakterijskih infekcija.¹ Ljudskom crijevnom mikroflorom smatramo veliku i raznoliku zajednicu mikroorganizama koja sadrži različite tipove života: bakterije, arheje, eukariote, viruse i parazite.^{2,3} Pojmom „crijevna mikroflora“ obično se označava fekalna mikroflora debelog crijeva. Razlog tome je činjenica da su mikroorganizmi tog područja do sada najbolje istraženi i imaju određene posebnosti koje djeluju na zdravlje čovjeka.²



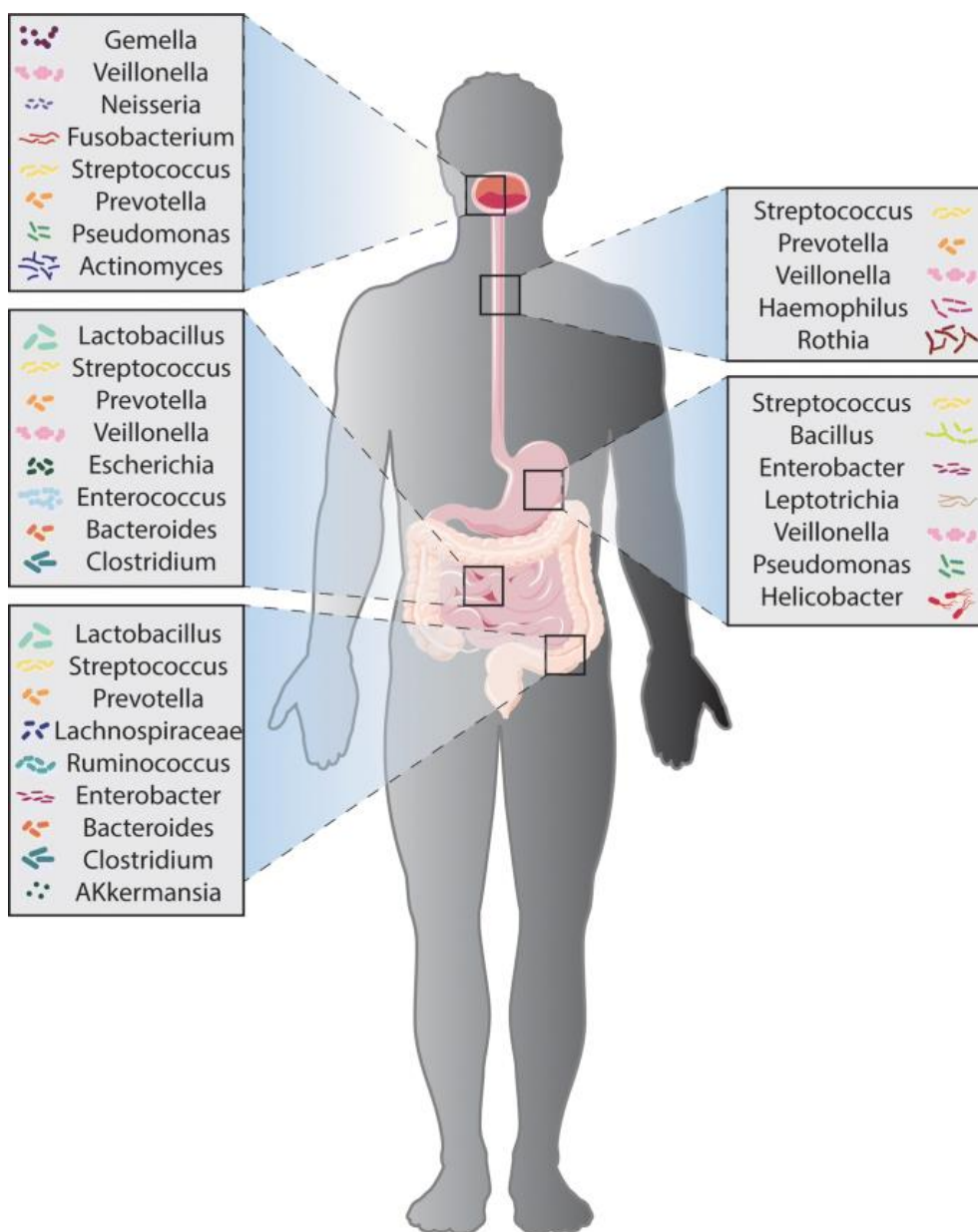
Slika 1. Prikaz dijelova ljudskog gastrointestinalnog trakta⁴

Crijevna pulpa bogata je nutrijentima i osigurava poželjno okruženje velikom broju bakterija. Organizam stoga razvija brojne mehanizme putem kojih kontrolira te bakterije. Bakterije mogu biti kontrolirane ili suzbijanjem (npr. pomoću lizosoma iz sline ili želučane kiseline) ili pak odvajanjem bakterija od crijevnog zida sa sluznom preprekom. Vrlo često su istovremeno umiješani i mehanizmi suzbijanja, ali i odvajanja. Razlika je u njihovoj uravnoteženosti. Polimikrobne zajednice u usporedbi s pojedinačnim kulturama izrazito su neposlušne. Koordinirano reagiraju na izazove okoliša, odupiru se liječenju antibioticima i ne daju imunoloških odziv organizma, ali i sposobni su opstati u ekstremnim uvjetima. Kontrola rasta bakterija od strane domaćina stoga nikada nije apsolutna, a crijevo nikada nije sterilno. Pojava, sastav i organizacija crijevne mikroflore u pojedinim dijelovima crijeva ovisi o tome je li suzbijanje dominantnije od odvajanja i obratno. U dijelovima crijeva s aktivnim suzbijanjem mikroflore, sastav i koncentracija bakterija varira. Potpuno odvajanje bakterija od sluznice i niska razina suzbijanja mogu dovesti do razvoja crijevnog rezervoara u kojem bakterije mogu rasti i doseći visoke koncentracije. Ravnoteža mehanizama suzbijanja i odvajanja ovisi o evolucijskom utjecaju bakterija zdravstvene koristi i opasnosti. Npr. eukariotski organizmi ne mogu probaviti celulozu. Biljojedi koriste mikroorganizme za izvođenje ovog zadatka. Bakterije koje probavljaju celulozu stoga su u buragu ovih životinja domaćini. Apsorpcija hranjivih tvari odvija se u tankom crijevu. Bakterije su ovdje jasni konkurenti i zato bivaju potisnuti kod svih sisavaca (uključujući i preživače). Prisutnost pojedinačnih bakterijskih skupina je prolazna, a koncentracije istih, u tankom crijevu, su niske. Uloga debelog crijeva je resorpcija vode i elektrolita i smanjenje fekalne mase. Crijevni sadržaj koji napušta tanko crijevo sadrži mnoge neprobavljive tvari. Ove neprobavljive tvari još uvijek mogu biti razgrađene od strane bakterija prisutnih u debelom crijevu.⁵

1.1. SASTAV

Crijevna mikroflora čovjeka sastoji se približno od 10 do 100 trilijuna mikroorganizama. Pretpostavlja se da preko 1000 bakterijskih vrsta nastanjuje intestinalni trakt čovjeka.⁶ Smatra se da je broj stanica ljudskog tijela i do 10 puta manji od broja mikroorganizama koji čine crijevnu mikrofloru.⁷ To znači da se naše tijelo, kao „superorganizam“, sastoji 10% od naših vlastitih stanica dok ostatak, 90%, čine mikrobne stanice.⁸ Nadalje, cijeli genom crijevnih

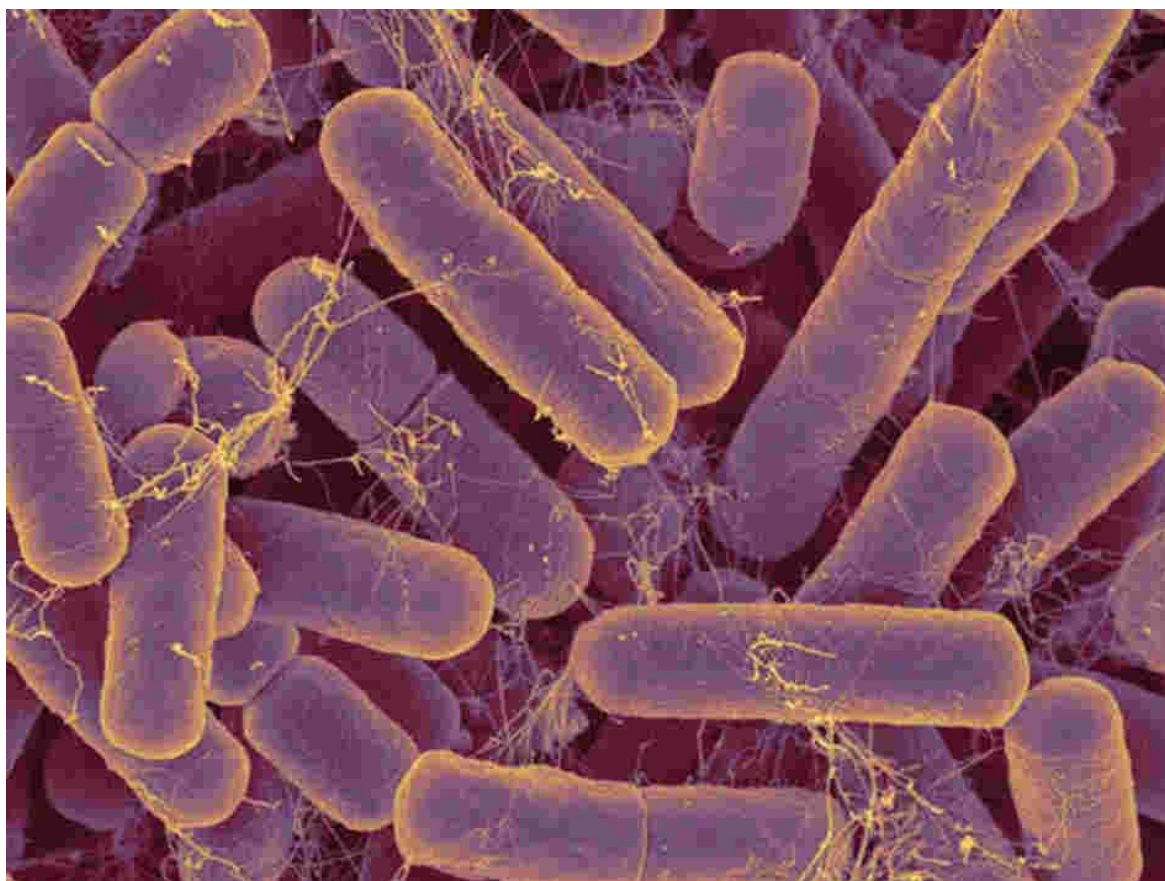
mikroorganizama, koji se naziva još i crijevni genom, sadrži 150 puta više gena nego ljudski genom.⁶ Velika većina bakterijskih vrsta pripada jednom od dva najčešća koljena: *Bacteroidetes* i *Firmicutes*.^{7,9} S napretkom modernih tehnika poput ciljanog 16S rRNA pirosekvencioniranja i neciljanog cjelogenomskog metagenomskog sekvencioniranja, broj novootkrivenih mikroorganizama postepeno raste. Danas je otkriveno i prepoznato da se veliki dio ljudskih crijevnih mikroorganizama može kultivirati *in vitro* pri čemu moraju prevladavati striktno anaerobni uvjeti.¹⁰⁻¹² Prikaz sastava „zdravog“ gastrointestinalnog mikrobioma čovjeka možemo vidjeti na slici 2.



Slika 2. Prikaz sastava „zdravog“ gastrointestinalnog mikrobioma čovjeka¹³

1.2. RAZNOVRSNOST I DINAMIKA

Homoestaza mikrobnih zajednica crijeva okarakterizirana je istovremenim postojanjem raznolikih mikrobnih vrsta u velikim i malim količinama.¹⁴ Zdravi ljudi obični imaju visoku koncentraciju crijevnih mikroorganizama. Ljudi koji imaju problema s pretilosti i inflamacijom, za usporedbu, sadrže niže koncentracije mikrobnih vrsta.^{15,16} Natjecateljske interakcije između povećanih mikrobnih vrsta mogu možda pomoći pri održavanju stabilnosti samog mikrobioma.¹⁷ Ekologija crijevnih mikroorganizama je dinamična, a to znači da ne mogu svi članovi bakterija istovremeno i stalno kolonizirati crijeva. Koevolucija između mikroba i njihovog domaćina natjerala ih da je razviju raznolike i brojne mehanizme koji će dati prednost njihovoj kolonizaciji.¹⁸ Kao primjer možemo uzeti *Bacteroides fragilis* (slika 3) koji sintetizira nekoliko površinskih kapsularnih polisaharida u svrhu lakše kolonizacije u gastrointestinalnom traktu.¹⁹ Ove domaće komenzalne bakterije također igraju bitne uloge u obrani protiv napada od strane egzogenih oportunističkih patogena kroz mehanizam natjecateljskog isključenja.²⁰



Slika 3. Prikaz štapičaste bakterije *Bacteroides fragilis*²¹

1.3. RAZLIKE I SLIČNOSTI

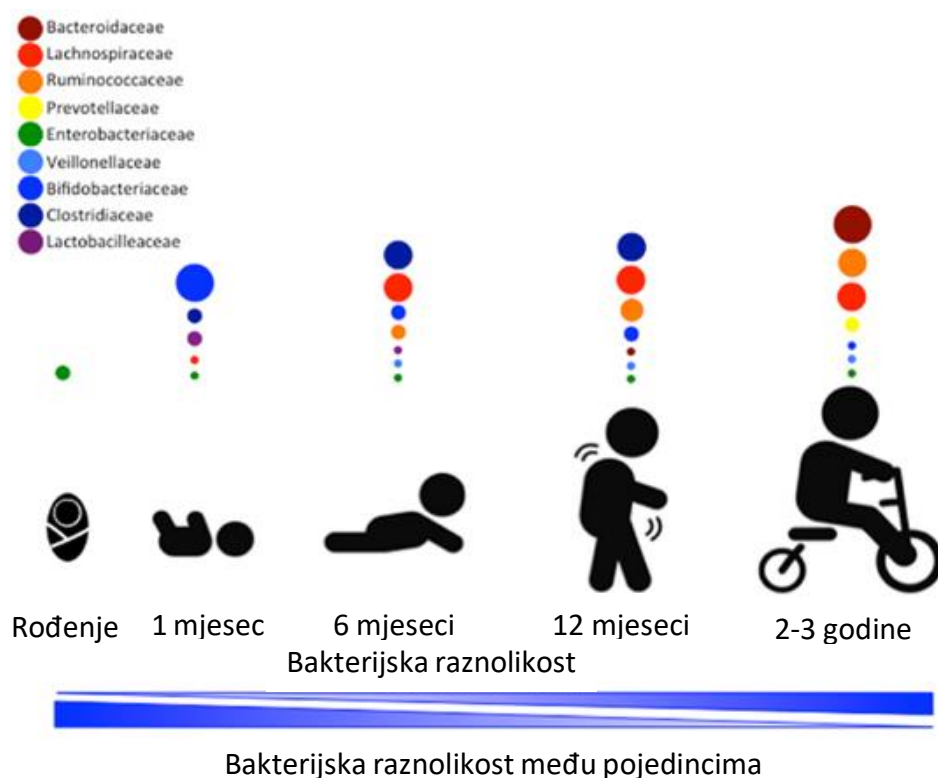
Utvrđeno je da među pojedincima, iz različitih populacija, postoji nezanemariva razlika u sastavu njihove crijevne mikroflore.^{6,22} Ljudski crijevni mikrobiom bi se mogao podijeliti na tri enterotipa: *Bacteroides* enterotip, *Prevotella* enterotip i *Ruminococcus* enterotip. Različiti fermentirajući supstrati koji se nalaze u debelom crijevu mogu dovesti do obogaćenja bakterijskih rodova u pojedinog enterotipa.¹⁴ Iako se u ovom načinu grupiranja još uvijek raspravlja, naznačuje nam da bi različiti pojedinci trebali imati raznolike odzive za iste prehrane ili terapije lijekovima.^{23,24} Ovim je naglašena važnost crijevne mikroflore kod razvoja prilagođenih prehranbenih i terapijskih strategija.¹⁴ Iako među pojedincima postoje značajne razlike u broju bakterijskih koljena, različite jedinke dijele slične brojnosti nekoliko osnovnih metaboličkih i funkcionalnih puteva uključujući metabolizam fruktoze/manoze i aminokiselina i *N-glikan* degradaciju.²² Unutar zdrave populacije, većina mikrobni metaboličkih i funkcionalnih puteva ravnomjerno je raspoređena po različitim staništima u tijelu.²⁵

1.4. CRIJEVNA MIKROFLORA KOD RAZLIČITIH DOBNIH SKUPINA

1.4.1. Crijevna mikroflore u ranom razvoju

Razvoj i kolonizacija crijevne mikroflore je složen proces koji obuhvata brojna mikrob-mikrob i mikrob-domaćin međudjelovanja. Zdrava crijevna mikrobna ekologija stvara se u ranom djetinjstvu i ona je presudna za održavanje zdravlja tijekom cijelog života. Nerođena djeca koja se nalaze u okolišu maternice smatraju se sterilnima.²⁶ Majčinski čimbenici poput prenatalnog stresa, antibiotskih terapija i produljenog razdoblja trudnoće, mogu dovesti do poremećaja kolonizacije crijevne mikroflore kod beba. Način poroda također je jako bitan čimbenik koji djeluje na kolonizaciju crijevne mikroflore u organizmu u ranim fazama života.²⁷⁻
²⁹ Vaginalno rođene bebe stječu i imaju bakterijske zajednice slične majčinoj vaginalnoj mikroflore. U usporedbi, bebe rođene putem carskog reza sadrže bakterijske zajednice koje su sličnije majčinoj kožnoj mikroflore.²⁹ Crijevna mikroflore beba rođenih putem carskog reza ima nižu ukupnu mikrobnu raznolikost. Nenormalna kolonizacija crijevne mikroflore uzrokovana carskim rezom može doprinijeti većem riziku stjecanja nekoliko imunoloških poremećaja

poput astme i dijabetesa u kasnijem životu.³⁰⁻³² Oralni i kožni mikrobi majke mogu biti preneseni do crijevne mikroflore novorođenčadi.^{29,33} Štoviše, rano izlaganje širokom rasponu mikroorganizama iz okoline ključno je za razvoj zdravog imunološkog sustava koji igra kritičnu ulogu u normalnom uspostavljanju crijevne mikroflore.^{34,35} Disregulacija sastava crijevne mikroflore za vrijeme ranog djetinjstva bila je povezana sa sve većom učestalosti mnogobrojnih alergijskih oboljenja uključujući astmu, atopijski ekcem i alergijski rinitis.³⁶⁻³⁸ Struktura i sastav crijevne mikroflore beba su nestabilni u prvim godinama života.³⁹ Za vrijeme ovog perioda, način hranjenja smatra se ključnim čimbenikom kod formiranja crijevne mikroflore.³³ Složeni oligosaharidi iz majčinog mlijeka mogli bi promovirati rast i kolonizaciju blagotvorne mikroflore poput *Bifidobacteria* u crijevima beba.⁴⁰ Nedavna istraživanja ukazuju na to da su sijalizirani oligosaharidi majčinog mlijeka potrebni za poticaj rasta i metabolizma dojenčadi.⁴¹ Kakogod, dojenčad hranjena mliječnim formulama bila bi češće kolonizirana potencijalnim patogenima poput *Escherichia coli* i *Clostridium difficile* u usporedbi s dojenčadi koja je hranjena dojenjem.⁴² Sveukupno gledajući možemo doći do zaključka da dojenčad hranjena dojenjem možda ima zdraviju crijevnju mikrofloru u usporedbi s dojenčadi koja je hranjena mlijekom na bazi različitih formula. Tek po navršenoj trećoj godini života kod djece dolazi do uspostavljanja crijevne mikroflore koja sliči onoj kao kod odraslih osoba.⁴³ Za vrijeme ovog perioda, genetske funkcije crijevnog mikrobioma dojenčadi mijenjaju se od najranijih (iskorištavanje laktata) do onih karakterističnih za odrasle osobe (razgradnja biljnih polisaharida, biosinteza vitamina i ksenobiotska degradacija). Kakogod, specifični životni događaji poput bolesti, promjene prehrane i tretmana antibioticima mogu prouzrokovati nagle promjene u sastavu crijevne mikroflore dojenčadi.⁴⁴ Na slici 4 možemo vidjeti razvoj crijevne mikroflore u ranoj životnoj dobi.

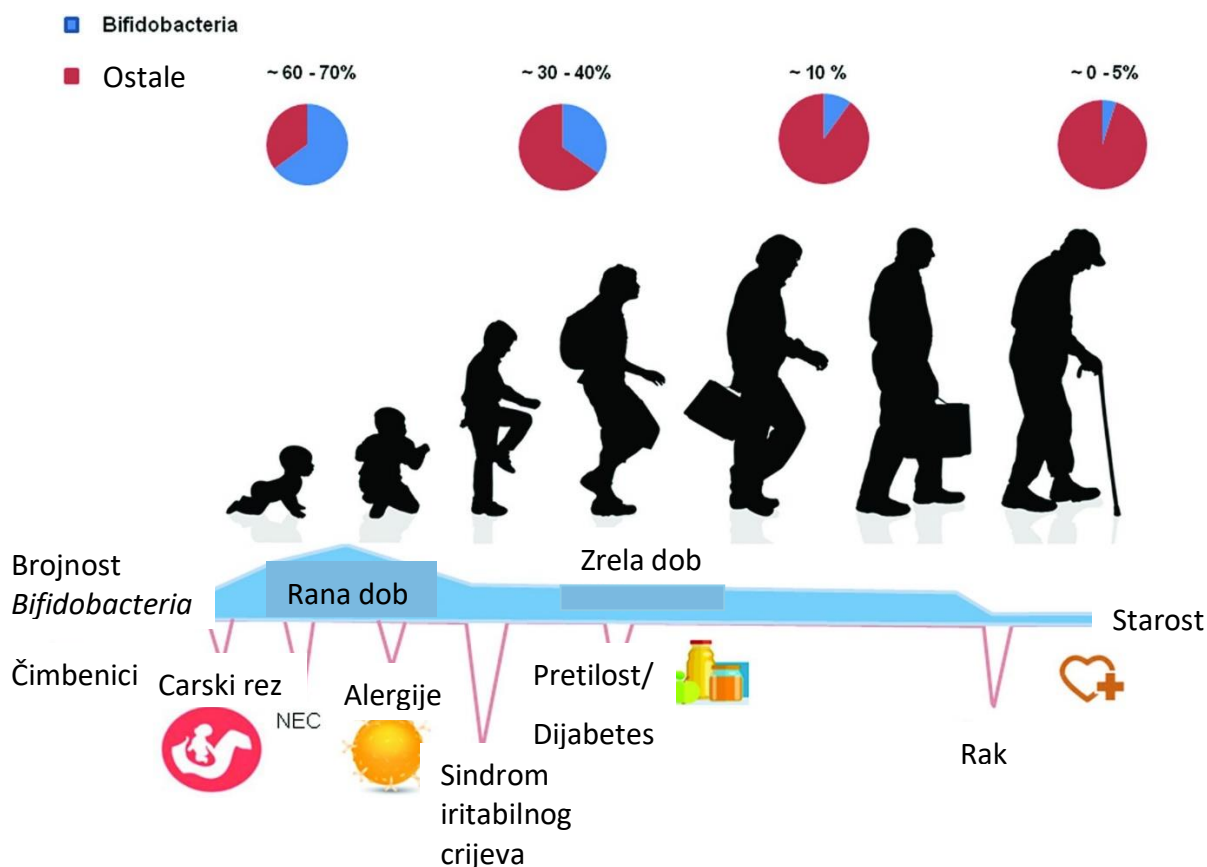


Slika 4. Razvoj crijevne mikroflore u ranoj životnoj dobi⁴⁵

1.4.2. Crijevna mikroflore kod starijih osoba

Struktura ljudske crijevne mikroflore mijenja se sa starenjem i to je prihvaćena činjenica. Brojna istraživanja pokazala su da među zdravim starijim pojedincima postoje značajne razlike i odstupanja crijevnog bakterijskog sastava. Jedna od razlika okarakterizirana je većim udjelom patogenih enterobakterija i manjim udjelom probiotika i bifidobakterija.⁴⁶⁻⁵¹ Zanimljivo je da su ljudi koji su živjeli više od stotinu godina, također pokazali veći udio fakultativnih anaeroba poput proteobakterija u svojim crijevima, dok je udio protuupalnih *Faecalibacterium* bio manji u usporedbi s mlađim i starijim osobama.⁵² Jedno nedavno objavljeno istraživanje tvrdi da je crijevna mikroflore starijih osoba, koje su smještene u ustanovama za skrb i njegu starijih, imala visok udio vrste *Bacteroidetes* i rodova *Parabacteroides*, *Eubacterium*, *Anaerotruncus*, *Lactonifactor* i *Coprobacillus*. Za razliku od njih, starije osobe koje su živjele u zajednicama gajile su veći udio vrste *Firmicutes* i rodova *Coprococcus* i *Roseburia*. Prehrana i način života mogu biti presudni čimbenici koji doprinose razvoju i promjeni sastava crijevne mikroflore kod starijih osoba.⁵³ Razvoj specifičnih probiotika i/ili prebiotika u ranom djetinjstvu nužan je za preciznu promjenu i uspostavu

crijevne mikroflore.⁴³ Brojnost bakterijskih populacija *Bifidobacteria* u crijevnoj mikroflori starenjem značajno opada (slika 5).⁵⁴



Slika 5. Promjena brojnosti bakterijskih populacija *Bifidobacteria* sa starenjem⁵⁴

1.5. BIOGEOGRAFIJA CRIJEVNE MIKROFLORE

Sastav crijevne mikroflore odražava se na fiziološka svojstva pojedine regije. Gustoća i sastav crijevne mikroflore pod utjecajem su kemijskih, nutritivnih i imunoloških gradijenata duž crijeva. U tankom crijevu nalaze se obično visoke koncentracije kiselina, kisika i antimikrobnih tvari, a za njega je karakteristično i kratko tranzitno vrijeme. Ovakva svojstva ograničavaju rast bakterija pa se tako smatra da preživljavaju samo brzorastući fakultativni anaerobi koji imaju sposobnost prianjanja na epitel ili sluz crijeva. Za tanko crijevo miševa karakterističan je velik i dominantan broj *Lactobacillaceae*. Nasuprot tome, uvjeti u debelom crijevu podržavaju gustu i raznoliku zajednicu bakterija, uglavnom anaeroba sa sposobnošću iskorištavanja složenih ugljikohidrata koji nisu probavljeni u tankom crijevu. U debelom crijevu dominiraju *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae* i *Rikenellaceae*. Različiti organi gastrointestinalnog trakta razlikuju se međusobno prema sastavu i raznovrsnosti njihove mikroflore. Mikroflora različitih

područja sluznice debelog crijeva, unutar iste jedinke, prostorno je očuvana u smislu raznovrsnosti i sastava. Ova značajka očituje se čak i za vrijeme trajanja lokalizirane upale. S druge strane, sastav fekalije i sluznice značajno se razlikuje. Naime, istraživanja su pokazala da fekalije sadrže veći udio *Bacteroidetes* nego sluznica. Protivno tome, udio *Firmicutes* veći je u sloju sluznice u usporedbi s fekalijama/lumenom. Nedavni pokusi na miševima pokazali su da vanjska sluz debelog crijeva ima jedinstvenu mikrobnu floru. Bakterijske vrste prisutne u ovoj sluzi pokazuju različitu proliferaciju i iskorištenje resursa u usporedbi s istim vrstama koje se nalaze u crijevnim fekalijama. Ova zapažanja ističu potrebu pomnog razmatranja pri odabiru metode uzorkovanja kod analize sastava crijevne mikroflore.⁵⁵

1.6. ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA RAZVOJ CRIJEVNE MIKROFLORE

1.6.1. Geografija

Pokazalo se da geografski položaj i etnička pripadnost znatno utječu na raznovrsnost i ukupni sastav cijevne mikroflore. Jedna studija dokazala je da postoje značajne razlike u funkciji i sastavu crijevne mikroflore između američkog i malavijskog/indijanskog stanovništva. Yatsunenکو T i sur. (2012), za potrebe studije, analizirali su 531 fekalni uzorak odraslih osoba i djece. Uzorci su se geografski/etnički razlikovali ovisno o stanovništvu (područje Amazona u Venecueli, ruralnog Malavija, američka metropolitanska područja). Pri tome analizirani su i uzorci jednojajčanih i dvojajčanih blizanaca. Sve ispitivane populacije pokazale su neke zajedničke značajke crijevne mikroflore tijekom prve tri godine života, pri čemu su bile uključene i dobne promjene u genima koji sudjeluju u biosintezi vitamina i metabolizmu. Pronađene su značajne razlike u sastavu i raznovrsnosti filogenetske crijevne mikroflore među pojedincima koji žive u različitim državama. Najveće razlike i odstupanja u sastavu crijevne mikroflore primijećene su između američke, malavijske i indijanske populacije. To je vrijedilo za mlado (0-17 godina) i odraslo stanovništvo. Raznovrsnost crijevne mikroflore povećavala se starenjem. Ovo se odnosilo na sve tri populacije, pri čemu je američko stanovništvo imalo najmanju crijevnu bakterijsku raznolikost. Identificirano je 476 značajno različitih enzima među malavijskoj i američkoj dojenčadi. Najistaknutije razlike bile su povezane s biosintezom vitamina i metabolizmom ugljikohidrata. Malavijske i indijanske bebe, ne uključujući odrasle osobe, sadržavale su veći broj enzima koji su potrebni kod biosinteze vitamina B₂ (riboflavina). U usporedbi s odraslim mikrobiomima, mikrobiomi beba pokazali su veću obogaćenost

enzimima koji su uključeni u uklanjanje glikana zastupljenog u majčinom mlijeku u crijevnoj sluznici (manani, sialirani glikani, galaktoza i fukozil oligosaharidi). U usporedbi s američkim bebama, nekoliko od ovih gena bilo je prekomjerno zastupljeno u mikrobiomima malavijskih i indijanskih beba. Tipična američka prehrana bogata je proteinima, dok u prehrani stanovnika Malavija i Indijanaca dominiraju kukuruz i manioka. Postoje poveznice između prehrane američkog i malavijskog/indijanskog stanovništva prema kojim sama prehrana uvjetuje razvoj i raznovrsnost crijevne mikroflore. Zanimljivo je da je nekoliko enzima (aspartat, prolin, ornitin i lizin), koji sudjeluju u razgradnji aminokiselina, bilo prekomjerno zastupljeno kod crijevne mikroflore odraslih Amerikanaca. Osim spomenutih enzima, prezastupljeni bili su i enzimi uključeni u katabolizam jednostavnih šećera. Malavijski i indijanski mikrobiomi sadržavali su velike količine enzima α -amilaze koji sudjeluje u razgradnji škroba. To je izravna posljedica prehrane Malavijaca i Indijanaca koja se zasniva na kukuruzu. Američki mikrobiomi imali su prekomjernu zastupljenost enzima uključenih biosintezi vitamina (kobalamin, biotin i lipoična kiselina) i metabolizam ksenobiotika (fenilacetat CoA ligaza), koji sudjeluju u metabolizmu aromatskih spojeva, reduktaze žive, te u metabolizmu žučne soli (koloilglicin hidrolaza). Zapažena je veća zastupljenost *Bacteroidetes* i manja zastupljenost *Firmicutes* u fekalnoj mikrofli djece koja žive u ruralnim područjima Afrike, u usporedbi s djecom koja žive u Europe (Italiji). Kod crijevne mikroflore afričke djece zabilježena je relativno visoka zastupljenost specifičnih bakterijskih rodova (*Prevotella*, *Treponema* i *Xylanibacter*). Zaključeno je da im ovo svojstvo mikroflore može pomoći pri maksimiziranju ekstrakcije energije iz neprobavljivih prehrambenih vlakana. Razlike u načinu prehrane mogu u velikoj mjeri utjecati na promjenu sastava crijevne mikroflore. Te razlike očiglednije su između ruralnih i urbanih populacija. Nadalje, treba uzeti u obzir i „zapadnjačku prehranu“ jer neki autori smatraju da je upravo ona, kroz generacije, prouzrokovala izumiranje nekih crijevnih mikroba. Većina autora smatra da se dosadašnja saznanja mogu upotrijebiti za razvoj dijagnostičkih i prognostičkih alata koji će omogućiti lakšu identifikaciju brojnih ljudskih poremećaja (rak debelog crijeva, dijabetes, pretilost, metabolički sindrom i kardiovaskularna oboljenja).^{43,56,57}

1.6.2. Genetika

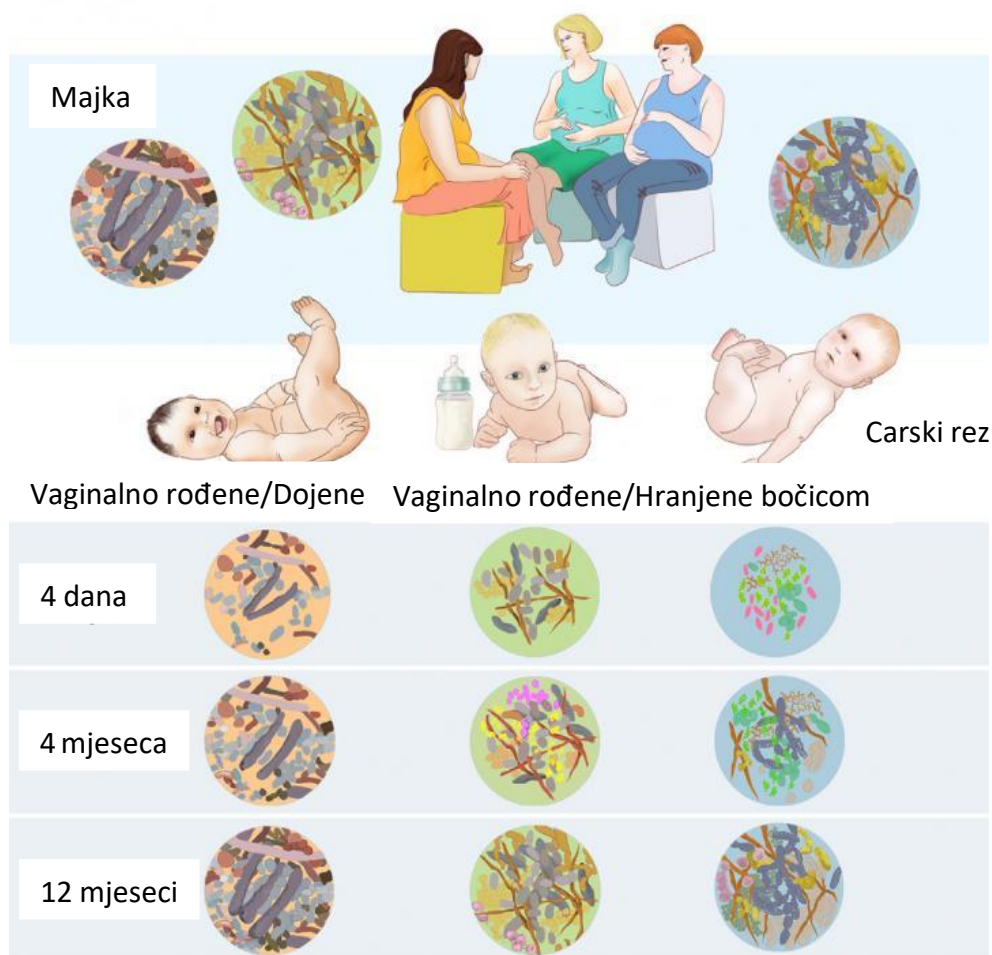
Broj specifičnih bakterija koje se mogu pronaći u crijevima pod utjecajem su genetskih značajki domaćina. Djelovanje ovih značajki očituje se tako da one utječu na metabolizam

domaćina pa u konačnici mogu djelovati i na zdravlje pojedinca. Britanska studija analizirala je >1000 fekalnih uzoraka 416 blizanaca i zaključila da genetika domaćina oblikuje crijevnu mikrofloru i fenotip pretilosti. Ponovnom analizom 2252 fekalna uzorka blizanaca dolaze do zaključka da je samo 1,9-8,1 % crijevnog mikrobioma nasljedno. Utvrđeno je da članovi obitelji imaju više međusobno sličnih zajednica mikroflore nego nepovezani pojedinci. Također je dokazano da je sastav crijevne mikroflore jednojajčanih blizanaca sličniji nego kod dvojajčanih blizanaca. Pojedini geni imunološkog sustava povezani su s upalnom bolesti crijeva. Međutim, za sada nisu provedena istraživanja cijelog genoma i njegovih specifičnih gena i genskih puteva koji određuju sastav crijevne mikroflore. Istraživanje nad 1046 pojedinaca pokazalo je da su genetski nepovezani pojedinci koji su živjeli u istoj zajednici imali sličniji sastav crijevne mikroflore, nego rodbina koja nije imali povijest dijeljenja kućanstva. Iako genetika utječe na razvoj crijevne mikroflore, izraelski istraživači smatraju da je utjecaj okolišnih čimbenika mnogo dominantniji.⁵⁸⁻⁶⁰

1.6.3. Porođaj

Prilikom poroda novorođenčad je izložena širokom spektru mikroorganizama koji doprinose kolonizaciji i razvoju crijevne mikroflore. Način poroda izravno utječe na sastav crijevne mikroflore dojenčeta. Za vrijeme vaginalnog poroda, dojenče je izloženo mikroflori koja je drugačija od kožne mikroflore s kojom se ono susreće tijekom poroda carskim rezom. Ova mikroflora drugačija je od mikroflore žena koje nisu trudne. Ona se također, za vrijeme trudnoće, neprestano mijenja i razvija kao i sam zametak. Promjene mikroflore majke tijekom trudnoće imaju blagotvornu ulogu. Naime, one štite majku i zametak od nekih oboljenja poput *Neisseria gonorrhea*, ali i omogućavaju učinkovitiju upotrebu energije za potporu rasta majke i zametka. Brojne studije pokazale su da dojenčad rođena vaginalno ima veću populaciju *Firmicutes* u usporedbi s dojenčadi koja je rođena carskim rezom. Bebe rođene carskim rezom uopće nemaju pojedine mikrobe u sastavu crijevne mikroflore, poput *Lactobacillus*, *Prevotella* i *Sneathia*. Umjesto toga, crijevna mikroflora tih beba kolonizirana je kožnim mikrobima kao što su *Staphylococcus*, *Propionibacterium* i *Corynebacterium*. Ove bebe imaju odgođenu kolonizaciju crijevnim mikrobima poput *Bacteroides* i *Bifidobacterium*. Mnoga istraživanja tvrde da djeca rođena carskim rezom imaju veće šanse da obole od nekih dječjih autoimunih oboljenja poput celijakije, astme i tip I. dijabetesa. Dojenče, unatoč izloženosti raznovrsnoj mikroflori u periodu prije rođenja, većinu crijevne mikroflore stječe nakon rođenja. Početna

kolonizacija mikroflore je kaotična, a sve veći broj stručnjaka tu kaotičnost pripisuje, prije svega, izloženosti okolišu u ranom životu i prehrani. Kolonizacija crijeva dojenčadi odvija se kroz nekoliko faza. U ranim fazama crijeva bivaju kolonizirana od strane, prvenstveno, aerobnih mikroorganizama (enterobakterije, stafilokoki i streptokoki) od kojih mnogi mogu imati potencijalno patogene učinke. Ovi rani kolonizatori mijenjaju okruženje u crijevima i tako otvaraju put kolonizaciji anaerobnim zajednicama mikroba. Struktura crijevne zajednice nastavlja se mijenjati tijekom prve godine života. Nakon prve godine života crijevna mikroflora se razvija i mijenja pod djelovanjem ekstrinzičnih (vanjskih) faktora poput prehrane i upotrebe antibiotika. Odbijanje, dojenje, te uzastopno uvođenje različitih vrsta hrane u prehranu dojenčeta, odražavaju se na njegov sastav crijevne mikroflore i imunološki sustav.^{57,61,62,63} Ilustraciju raznolikosti crijevne mikroflore kod beba ovisno o načinu porođaja možemo vidjeti ispod na slici 6.³³



Slika 6. Raznolikost crijevne mikroflore kod beba ovisno o načinu porođaja³³

1.6.4. Dojenje

Majčinsko mlijeko nije sterilno i upravo zbog toga predstavlja još jedan bitan čimbenik koji doprinosi uspostavljanju bakterijske zajednice u crijevima dojenčadi. Ono predstavlja optimalnu hranu za dojenčad jer zadovoljava sve njihove prehrambene i fiziološke potrebe. U sastav majčinskog mlijeka ulaze proteini, masti i ugljikohidrati, kao i imunoglobulini i endokanabinoidi. Osim što sadrži laktozu, ugljikohidratna komponenta ljudskog mlijeka također sadrži i oligosaharide, koji čine treću najveću krutu komponenta mlijeka. Oligosaharidi ljudskog mlijeka su neprobavljivi polimeri nastali polimerizacijom malog broja različitih monosaharida koji služe kao prebiotici jer selektivno stimuliraju rast pripadnika roda *Bifidobacterium*. Jedna od prednosti dojenja u odnosu na komercijalno dostupno mlijeko za bebe je utjecaj oligosaharida na korisne bakterije. Taj utjecaj očituje se većim udjelom *Bifidobacterium* kod dojenčadi u odnosu na bebe koje su hranjene komercijalno dostupnim formulama, koje služe kao zamjena majčinskom mlijeku. Istraživanja ukazuju na to da prijenos mikroflore između majke i dojenčeta djeluje na rast i razvoj dojenčadi. Utvrđeno je da mlijeko pretilih majki sadrži različite, manje raznolike bakterije u usporedbi s mlijekom majki normalne tjelesne mase. Bakterije prisutne u majčinom mlijeku, kao i one na majčinoj koži, među prvim su mikrobima koji ulaze u tijelo dojenčeta i oni bi mogli odigrati važnu ulogu za zdravlje dojenčeta. Majčinsko mlijeko također je bogat izvor IgA antitijela koji djeluje protiv raznih patogena. Ljudsko majčinsko mlijeko prepoznato je kao izvor komenzalnih i potencijalno probiotskih bakterija koje utječu na razvoj crijevnog mikroflore dojenčadi. Ono sadrži i do 700 različitih vrsta bakterija uključujući korisne, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* i *Bifidobacterium dentium*. *Bifidobacterium* povezano su s jačanjem zaštitne crijevnog sluznice koja štiti organizam od patogena. Pokazalo se da *Bifidobacterium* povećavaju proizvodnju imunoglobulina A, što je povezano s modulacijom crijevnog imunološkog sustava. Iako su bakterijske zajednice u majčinskom mlijeku općenito složene i variraju pojedinačno, medijan bakterijskog opterećenja iznosi $\sim 10^6$ bakterijskih stanica/mL u jedinici vremena. Dosadašnja istraživanja smatraju da su *Streptococcus* i *Staphylococcus* najzastupljeniji bakterijski rodovi u majčinskom mlijeku. Oba navedena roda brojnošću dominiraju i u sastavu kožne mikroflore. Stoga, majčinsko mlijeko može sadržavati i kožne bakterije. S razvojem saznanja o sastavu ljudskog majčinskog mlijeka, razvijale su se i različite složene formule za dojenčad koje su

pokušale oponašati njegovu nutritivnu vrijednost, čineći ih prihvatljivom zamjenom za majke koje ne mogu dojiti. Formule za dojenčad nisu savršena zamjena za majčinsko mlijeko budući da im nedostaju bioaktivni spojevi sadržani u majčinskom mlijeku. Poznato je da ti spojevi utječu na apsorpciju hranjivih tvari i probavu, imunološku zaštitu i obranu od potencijalno patogenih mikroorganizama. Nažalost, teško je oponašati učinke ovih bioaktivnih spojeva. Razvoj formula za dojenčad je u uzlaznoj putanji, no ipak će biti potrebno daljnje razvijanje kako bi one postale istinska zamjena za majčinsko mlijeko.^{57,60,62}

1.6.5. Upotreba lijekova

Upotreba lijekova jedan je od najznačajnijih načina pomoću kojih možemo utjecati na zdravlje i mikrobiom organizma. Antibiotici su najpoznatija skupina lijekova koja izaziva pomake u mikrobiomu. Antibiotičke terapije ne ciljaju samo na patogene mikroorganizme već i na mikrobne zajednice u crijevima domaćina. Većina antibiotika ima djelovanje širokog spektra pa se mogu koristiti za liječenje mnogih bolesti. Taj spektar utjecat će na promjenu sastava crijevnih mikroflora. Bez obzira na to što su antibiotici osmišljeni kao lijekovi koji djeluju samo na patogene, oni istovremeno djeluju na srodne članove mikroflora. Tako antibiotici mogu ostaviti trajan negativan učinak na crijevnu mikrobnu zajednicu i dugo nakon uporabe istih. Iako se mikrobna zajednica uglavnom vraća u stanje prije antibiotika, studije sugeriraju da izloženost postantibioticima može dovesti do novog stacionarnog stanja koje se razlikuje od stanja zajednice prije upotrebe antibiotika. Novo stabilno stanje koje nastaje nakon upotrebe antibiotika povećava osjetljivost domaćina na infekcije, atopijske bolesti i metabolički sindrom. Dugogodišnje studije pokazale su da ovi učinci antibiotika mogu biti dugotrajni, čak i do 4 godine nakon upotrebe istih. Doza antibiotika također je važan čimbenik kod određivanja ekološkog djelovanja na mikrofloru. Značajno je i to da ova djelovanja nisu ograničena samo na antibiotike koji se unose u organizam oralnim putem, već i intravenozno. Intravenozno primijenjeni antibiotici mogu djelovati na crijevnu mikrofloru tako da se ugrađuju u žuč i izluče putem bilijarnog sustava. Promjene mikrobne zajednice crijeva mogu rezultirati poremećajem imunološke homeostaze domaćina i povećane osjetljivosti na bolesti. Interakcije domaćin-mikrob vrlo su specifične, a antibiotska terapija uzrokuje promjenu ili gubitak koevolviranih procesa. Promjene izazvane antibioticima koje su važne za mikrobnu regulaciju imuniteta domaćina uključuju: gubitak bakterijskih liganada koje prepoznaje domaćin, gubitak specifičnih bakterijskih signala i promjene u metabolitima koje proizvodi

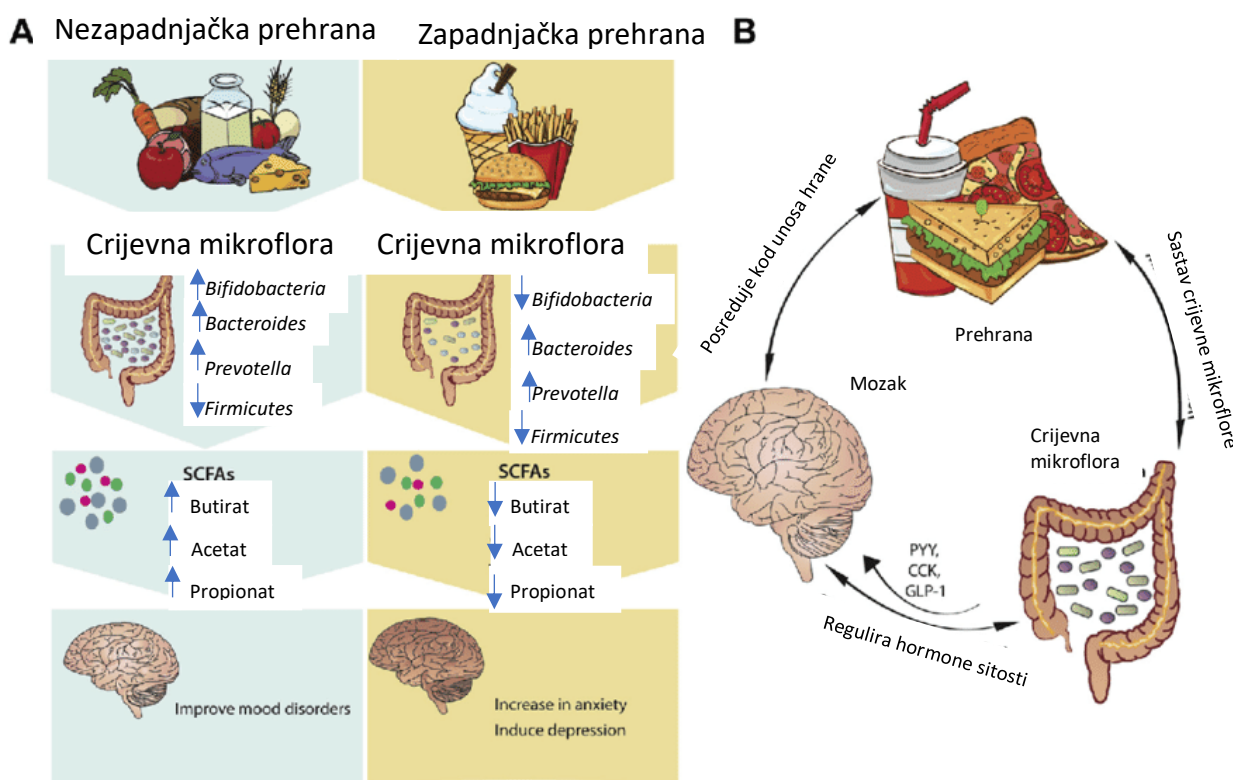
mikroflora, poput kratkih masnih kiselina. Promjene u crijevnom imunitetu povećavaju osjetljivost domaćina na infekcije patogenima. Na primjer, liječenje metronidazolom, antibiotik koji cilja na anaerobne bakterije, smanjuje integritet mukoznog sloja i ubrzava vezivanje *Citrobacter rodentium* na sluznicu. Antibiotici također mogu doprinijeti razvoju i širenju novih sojeva otpornih na antibiotike zbog čega često i znaju biti kritizirani. Ovi sojevi mogu služiti kao spremnici za otporne gene u crijevnoj mikroflori. Učinak antibiotika najbolje je istaknut u istraživanju o *Clostridium difficile*. Promjena mikrokruženja crijeva nakon izloženosti antibioticima ima za posljedicu stvaranje metaboličkog okruženja koje pogoduje klijanju i kolonizaciji *C. difficile*. Bolest koju uzrokuje *C. difficile* može biti jako iscrpljujuća za pacijente i koštati mnogo za zdravstveni sustav. Iako je glavni način liječenja bolesti prouzrokovane *C. difficile* transplantacija fekalne mikroflore, stekla je značajan kredibilitet za liječenje ponavljajućih *C. difficile*. Mnoge studije dokazale su učinkovitost i sigurnost transplantacije fekalne mikroflore kod pacijenata koji boluju od *C. difficile*.

Postoje i drugi lijekovi osim antibiotika koje su istražitelji povezali s promjenama u ljudskom mikrobiomu. Protonska pumpa i metformin dva su značajna i uobičajena primjera s više od 100 milijuna korisnika samo u Sjedinjenim Američkim Državama. Zbog smanjene proizvodnje kiselina, a samim time i većeg luminalnog pH, pokazano je da inhibitori protonske pumpe mogu izmijeniti želučanu floru kod kroničnih korisnika, ali i pojačati mali rast bakterija. Studija koja je ispitala pojedince s dijabetesom tipa 2, pokazala je da je uvođenje metmorfina snažno djelovalo na promjenu crijeвне mikroflore. Ideja da ostali lijekovi, isključujući time antibiotike, utječu na mikrobiom dovela je Maier-a i sur. (2018) da pregledaju više od 1000 lijekova. Pri tome su istaknuli da bi 24 % pregledanih lijekova moglo utjecati na rast bakterija. Ove studije demonstrirale su dramatične učinke lijekova na crijeвnu mikrofloru. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se vidjelo na koji način ti lijekovi mogu utjecati na mikrobne zajednice i kako su te promjene povezane s učinkovitošću lijeka.^{57,60-62,64,65}

1.6.6. Prehrana

Prehrana se pokazala kao jedan od najvažnijih čimbenika koji utječu na sastav, raznolikost i bogatstvo crijeвне mikroflore. Utvrđeno je da je to djelovanje uvelike prisutno i kod odraslih osoba, a ne samo kod dojenčadi i male djece. Značajne i logične promjene crijeвне mikroflore pripisane su izmijenjenoj prehrani, prvenstveno konzumaciji prehrambenih vlakana iz voća, povrća i drugog bilja. Pojedinci koji konzumiraju ovu vrstu hrane u svom organizmu sadrže

veći broj mikroorganizama, poput *Ruminococcus bromii*, *Roseburia* and *Eubacterium rectale*, koji sudjeluju u metabolizmu netopivih ugljikohidrata. Dokazano je da prehrana bogata mastima može promijeniti sastav crijevne mikroflore, dovesti do disbioze, a na koncu i do oboljenja. Raznovrsna i složena prehrana povezana je s raznolikijom crijevnom mikroflorom. Brojna istraživanja zaključila su da čak i kratkoročne promjene prehrane mogu imati značajan utjecaj na sastav crijevne mikroflore. Crijevna mikroflora može se promijeniti u roku od nekoliko dana nakon prelaska na drugačiju prehranu. Još uvijek je neizvjesno da li su te promjene stalne ili će prekidom nove prehrane promjene mikroflore nestati. Na globalnoj razini utvrđeno je da se sastav mikroflore razlikuje među pojedincima različitih populacija i kultura. U najmanju ruku, raznolikost crijevne mikroflore moći će poslužiti kao budući biomarker koji će ukazivati na utjecaj „zdrave“ i „nezdrave“ prehrane na crijevnju mikrofloru i razvoj bolesti iste.^{57,60,61,66,67} Na slici 7 možemo vidjeti trijadni odnosa između prehrane, crijevne mikroflore i mozga.⁶⁸



Slika 7. Prikaz trijadnog odnosa između prehrane, crijevne mikroflore i mozga⁶⁸

1.6.6.1. Zapadnjačka prehrana

Zapadnjačka prehrana ili uobičajena američka prehrana je prehrana koju karakteriziraju visoka razina masti, visoka razina šećera, visoke razine crvenog i prerađenog mesa, visoka razina rafiniranih žitarica i niska razina vlakana. Ova prehrambena navika povezana je s gospodarskim rastom neke zemlje. Ona predstavlja dio zapadnjačkog načina života kojeg odabiru mnogi ljudi razvijenih zemalja svijeta. Mnoge studije povezale su zapadnjačku prehranu s upalnim reakcijama, dijabetesom, kardiovaskularnim oboljenjima, pretilosti i metaboličkim sindromom. Iako zapadnjačka prehrana utječe na brojne i različite stanične vrste, kao što su adipociti, imunološke stanice i endokrini stanice, postoje snažne poveznice koje ukazuju na štetnost djelovanja iste na crijevnu mikrofloru. Osobe koje su na zapadnjačkoj prehrani, u usporedbi s drugim autohtonim prehranama, imaju značajno nižu mikrobnu raznolikost i obogaćenost vrstama. Mikrobni sastav zapadnjačke prehrane klasično je okarakteriziran prevelikom zastupljenosti koljena *Firmicutes* i smanjenim brojem *Bacteroidetes*. Na razini roda, zapadnjačka prehrana pokazuje smanjenje brojnosti *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, dok je udio *Enterobacter* povećan. Zbog toga je zapadnjačka prehrana povezana s povećanjem endotoksemije. Endotoksemija je stanje koje je okarakterizirano smanjenjem funkcionalnosti crijevne barijere i povećanjem razine bakterijskih lipopolisaharida i upalnih signalizacija. Nadalje, zapadnjačka prehrana može dovesti do trajnih promjena u sastavu crijevne mikroflore. Te promjene mogu imati za posljedicu veće rizike koji uključuju povećanje tjelesne mase, nemogućnost smanjenja tjelesne mase i pojavu pretilosti. Štoviše, veliki broj istraživanja podupire hipotezu prema kojoj je zapadnjačka prehrana glavni uzrok disbioze koja se javlja posljedično u crijevnoj mikroflori.^{61,69}

1.6.6.2. Mediteranska prehrana

Koncept Mediteranske prehrane razvijen je kako bi odražavao tipične prehrambene navike koju su početkom 1960-ih slijedili stanovnici mediteranskog bazena, uglavnom na Kreti, velikog dijela ostatka Grčke i južne Italije. Za razliku od zapadnjačke prehrane, mediteranska prehrana smatra se zdravijom prehrambenom navikom. Mediteransku prehranu karakterizira nizak unos šećera i crvenog mesa. Ona je centralizirana oko voća, maslinovog ulja, orašastih plodova, mahunarki i cjelovitih žitarica. Povezana je s velikim brojem zdravstvenih dobrobiti, uključujući smanjenje rizika od smrtnosti i prevenciju mnogih bolesti poput kardiovaskularnih

oboljenja, dijabetesa, metaboličkog sindroma, kognitivnih oštećenja i depresije. Mediteranska prehrana također podrazumijeva redovan unos jednostruko i višestruko nezasićenih masnih kiselina, polifenola i drugih antioksidansa, visok unos prebiotskih vlakana i ugljikohidrata niskog glikemijskog indeksa, ali i veći unos biljnih proteina u odnosu na proteine životinjskog podrijetla. Nedavno je provedeno istraživanje na populaciji od 153 jedinki. Ono je pokazalo da su ljudi, koji su se više pridržavali Mediteranske prehrane, imali povećanu razinu kratkolančanih masnih kiselina, prisustvo bakterija roda *Prevotella* i pojedinih vrsta roda *Firmicutes*. To je sve povezano s manjom učestalosti kardiovaskularnih oboljenja kod tih osoba. Osim toga, dokazano je i da osobe, koje imaju nisku privrženost Mediteranskoj prehrani, sadrže manju razinu trimetilamin oksida u mokraći. Manja razina trimetilamin oksida u mokraći povezana je s većim rizikom od kardiovaskularnih oboljenja. Nekoliko studija pokazalo je da osobe, koje prakticiraju Mediteransku prehranu, sadrže povećan broj *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Prevotella*, a smanjen broj roda *Clostridium*. Takve osobe imale su poboljšani lipidni profil i lakše su se nosile s pretilosti i upalama.^{61,69,70}

1.6.7. Pušenje

Pripada skupini vanjskih okolišnih čimbenika koji djeluju na sastav i raznolikost crijevne mikroflore. Poveznica između pušenja i različitih oboljenja je čvrsta i dokumentirana. U proteklih nekoliko godina provedena su brojna istraživanja koja su imali za cilj otkriti utjecaj pušenja na mikrofloru usne šupljine, jednjaka, želuca i crijeva. Konzumacija cigareta vodeći je uzrok smrtnosti u svijetu koji se može spriječiti. Unatoč javne svijesti o štetnim posljedicama pušenja, ono nastavlja biti globalna pandemija. Pretpostavlja se da trenutno diljem svijeta postoji više od 1,1 milijarde aktivnih pušača. Rasprostranjenost pušenja opada u razvijenim zemljama i to dijelom zbog visokih cijena cigareta i njihovog oporezivanja. Dok za razliku od razvijenih zemalja, rasprostranjenost pušenja u zemljama u razvoju bilježi stalni rast. Oko polovica pušača razvit će ozbiljne bolesti povezane s pušenjem kao na primjer kroničnu opstruktivnu plućnu bolest (KOPB) i rak. Mnoga istraživanja povezala su pušenje s povećanim rizikom od raka debelog crijeva. Ljudi koji su prestali pušiti čak i nakon 25 godina nepušenja imali se veće šanse oboljeti od raka debelog crijeva nego nepušači. Izloženost pasivnom pušenju povećava rizik od infekcije patogenima i uzrokuje pogoršanje drugih plućnih oboljenja poput astme. Nadalje, pušenje cigareta ima dvojaku ulogu kod razvoja upalnih bolesti crijeva. Ono također pogoduje razvoju Crohnove bolesti, ali i pojačava simptome ulceroznog kolitisa.

Brojna istraživanja sugeriraju da toksične komponente, koje se nalaze u sastavu dima cigareta, najviše pridonose razvoju ozbiljnih bolesti i sadrže temeljne patološke mehanizme. Međutim, ti mehanizmi još uvijek nisu u potpunosti razumljivi. Dim cigareta složena je kemijska smjesa koja u svoj sastav uključuje nikotin, aldehide, policiklične aromatske ugljikovodike, nitrozamine, teške metale itd. Ove toksične komponente u pluća pušača i pasivnih pušača dospijevaju udisanjem. U pluća dolaze u obliku čestica aerosola ili u slobodnom plinovitom stanju. Ovi štetni spojevi *in vivo* mogu smanjiti razinu endogenih antioksidansa, povećati peroksidaciju lipida i oksidativni stres te uvećati koncentraciju protuupalnih faktora u krvi domaćina. Toksini, prisutni u dimu cigareta, jednom kada dospiju u probavni trakt mogu inducirati disbiozu gastrointestinalne mikroflore. Disbioza se događa putem različitih mehanizama, poput antimikrobnog djelovanja i regulacije crijevnog mikrokruženja. Metagenomskom analizom utvrđena je skromna povezanost između pušenja i raznolikosti crijevne mikroflore. Jedna studija identificirala je veći udio *Bacteroides* i *Prevotella* u fekalnim uzorcima pušača u usporedbi s nepušačima. Nasuprot tome, pokazalo se da prestanak pušenja može, barem djelomično, vratiti raznovrsnost crijevne mikroflore. Uz to može i povećati broj predstavnika iz vrsta *Firmicutes* i *Actinobacteria*, te smanjiti prisutnost *Bacteroidetes* i *Proteobacteria*. Istraživanja na štakorima pokazala su da pušenje doprinosi porastu broja bakterija koje pripadaju soju *Clostridia*. Povećanje broja *Clostridia* zbog pušenja ubrzo je indirektno dokazano i kod ljudi. Neki autori tvrde da pušači imaju veće šanse oboljeti od infekcija prouzrokovanih djelovanjem *C. difficile*. U usporedbi s nepušačima, istraživanja su pokazala da nekadašnji pušači imaju 33 % veću sklonost, a aktivni pušači i do 80 % veću sklonost da obole od infekcije *C. difficile*. Mikrobne promjene vezane uz pušenje mogu dovesti do izmjene epitelnog sastava sluzi i pojačati upalni odgovor. Osim toga, neki eksperimenti na životinjama otkrili su da dim cigareta može smanjiti broj fekalnih bifidobakterija i njihovu proizvodnju kratkolančanih masnih kiselina. Načini na koje se pušenje odražava na crijevnu mikrofloru, područje su aktivnog istraživanja. Ti načini mogu biti povezani s imunološkom signalizacijom i/ili proizvodnjom sluzi nekih bakterijskih vrsta.^{61,71-73}

1.6.8. Stres

Stres je definiran kao ukupni odziv/odgovor organizma na zahtjeve i pritiske okoline. Riječ stres ima dvojako značenje jer se koristi u različitim životnim situacijama i može imati pozitivnu ili negativnu konotaciju. „Dobar stres“ odnosi se na situaciju koja nosi određeni rizik,

ali uz njega javlja se često i osjećaj nagrađenosti s pozitivnim učinkom (npr. povećanje plaće). Nadalje, stres može biti podnošljiv unatoč lošoj situaciji. Ta sposobnost najčešće krasi ljude pozitivnog, zdravog i prilagodljivog duha. Međutim, „loš stres“ ili „otrovan stres“ odnosi se na neugodne situacije s kojima se pojedinac ne može suočiti uslijed slabe podrške ili strukture mozga. Kod takvih slučajeva stres se, uglavnom, povezuje s događajima ranog života koji su narušili razvoj dobre kontrole impulsa i odgovarajućeg samopoštovanja. U ovakvim situacijama, nemogućnost nošenja sa stresom, može promicati štetne učinke na ponašanje, fiziologiju i zdravlje pojedinca. Postoji nekoliko različitih vrsta stresora, kao što su akutni i kronični, kombinacija akutnog i kroničnog, ili ponavljajući akutni. Stres može biti predvidiv i upravljiv, ali i nepredvidiv i neupravljiv. On također može biti blag ili težak. Percepcija stresa i postojanost njegovih posljedica razlikuje se među pojedincima. Stres doprinosi osjetljivosti na bolesti i invaliditete i stoga predstavlja veliki ekonomski teret. Sve veći broj istraživanja ukazuje na to da stres može biti uzročnik disbioze, a i da može djelovati na aktivnost mikrobnih zajednica u crijevima, ali i na njihov sastav. On ne utječe samo na mozak, već i na imunološki sustav i gastrointestinalni trakt, na kojeg djeluje putem crijevo-mozak osi. Bitno je napraviti razliku između fiziološkog i psihološkog stresa, budući da se njihov utjecaj na sastav crijeвне mikroflore različito manifestira.

Psihološki i fizički stresori djeluju na aktivnost hipotalamusa. To rezultira nizom hormonskih reakcija, uključujući sistematsko oslobađanje hormona kortikotropina, koji zatim potiče sintezu hormona kortizola u kori nadbubrežne žlijezde. Uslijed djelovanja psiholoških i fizičkih stresora, dolazi i do oslobađanja kateholamina (adrenalina i noraadrenalina). U novije vrijeme dokazano je da je crijevna mikroflora osjetljiva na utjecaj stresa i njegovih posrednika. Neurokemijski posrednici, koji se oslobađaju posredstvom stresa, djeluju na crijevenu mikrofloru i odgovore na bakterijske infekcije. Novije teorije sugeriraju da bakterije djeluju kao prijenosnici neuroaktivnih spojeva i stoga mogu utjecati na fiziološke karakteristike domaćina jer istog opskrbljuju neurokemikalijama.

Fizička tjelovježba je fiziološki stresor koji može napraviti probleme u gastrointestinalnom traktu. Neka istraživanja tvrde da je 30-90 % atletičara, koji prelaze dugačke etape, imalo problema s crijevima. Stupanj jačine crijevnih tegoba kreće se od blagih do ozbiljnih, a simptomi uključuju mučninu, povraćanje, trbušne angine i krvave proljeve. Sportaši često, ovisno o vrsti sporta kojim se bave, imaju različite prehrambene navike u usporedbi s ljudima

koji nisu profesionalni sportaši. Istraživanje provedeno na igračima ragbija pokazalo je da je njihov sastav crijevne mikroflore drugačiji naspram onog kojeg imaju ljudi koji se ne bave aktivno sportom (Clarke i sur., 2014). Studije na vojnom osoblju, koje je izloženo većem fiziološkom stresu zbog razine trenažnog procesa, pokazale su povezanost crijevne mikroflore i njezinih metabolita s propusnosti, upalama i drugim simptomima gastrointestinalnog trakta. (Li i sur., 2013; Phua i sur., 2015; Karl i sur., 2017a,b). Na primjer, nedavno istraživanje, koje je pratilo dnevne vojne vježbe vojnika tijekom arktičke zime, zaključilo je da je došlo do izrazitih izmjena u sastavu crijevne mikroflore i njezinih metabolita. Izmjene uključivale su promjenu propusnosti i pojavu upale gastrointestinalnog trakta. Trening okruženje okarakterizirano je izuzetno visokom potrošnjom energije, nedovoljnim unosom hrane, hladnim vremenom i nedovoljnim snom. Za vrijeme treninga, kod vojnika, uočeno je povećanje brojnosti manje dominantnih mikrobnih vrsta, na račun dominantnih. Bitnost održavanja zdrave i otporne crijevne mikroflore biva se priznatija i važnija, budući da izravno utječe na zdravlje i učinkovitost vojnog osoblja (Roussel i Douster, 2017; Arcidiacono i sur., 2018; Glaven i sur., 2018).

Otkriće hormonske regulacije probavnog sustava pokrenula je razvoj koncepta o crijevo-mozak osi. Izlaganje stresu u ranom životu, na primjer psihičko/fizičko zlostavljanje, smatra se važnim promicateljem patogeneze funkcionalnih poremećaja gastrointestinalnog trakta. Ovo razvojno razdoblje presudno je za razvoj što raznolikije crijevne mikroflore. Crijeva su stoga u ovom razdoblju dosta podložna i ranjiva prema utjecaju različitih stresora. Iako točni mehanizmi nisu poznati, podaci ukazuju da stres, akutni ili kronični, uvelike doprinosi doprinosi disbiozi crijevne mikroflore koja tada može izazvati anksioznost i depresiju. Stres i poremećaji raspoloženja međusobno se nadopunjuju. Nekoliko studija naglasilo je razliku u sastavu crijevne mikroflore zdravih pojedinaca i onih koji boluju od depresivnog poremećaja. Podaci pojedinih istraživanja sugeriraju da kod crijevne mikroflore depresivnih jedinki, dominiraju upalni mikrobi u odnosu na one koje promiču zdravlje. Dalje, stres i depresija mogu povećati propusnost crijevne barijere. Rezultat toga su „propusna crijeva“ koja bakterijama omogućavaju prodor u cirkulatorni sustav, izazivajući upalnu reakciju kod domaćina, ali potencijalno i višestruki fiziološki napad. Neka istraživanja smatraju da metaboliti crijevne mikroflore mogu djelovati na biokemiju i ponašanje mozga. Nadalje, druge studije ukazuju da promjene crijevne mikroflore mogu utjecati na metabolizam neurotransmitera i druge

nedefinirane puteve. Na primjer, kroničan stres predstavlja i problematičan brak. Parovi koji su živjeli u problematičnim brakovima pokazali su veću propusnost crijeva u odnosu na one parove koji nisu živjeli u problematičnim brakovima. Stresan laboratorijski govor je također utjecao na povećanje propusnosti crijeva kod zdravih odraslih osoba. Međutim, analiza podskupina otkrila je da je ovaj učinak bio prisutan samo kod osoba koje su imale povišenu razinu kortizola u tijelu. Uz kortizol, mastociti također pomažu slabljenju crijeвне barijere kod osoba izloženim stresu.^{57,61,74-84}

2. UTJECAJ CRIJEVNE MIKROFLORE NA ZDRAVLJE I BOLESTI ČOVJEKA

Crijevna mikroflore smatra se ključnim „organom“ koji ima utjecaj na biologiju domaćina. To znači da bilo kakve promjene crijevne mikroflore izravno utječu na cijelo tijelo ili zdravlje domaćina. Smatra se da je disbioza crijevne mikroflore povezana s razvojem i napredovanjem različitih bolesti kod ljudi. Bolesti koje su izravno ili neizravno povezane s promjenama crijevne mikroflore možemo podijeliti u tri skupine: metaboličke bolesti, imunološke bolesti i neurološke bolesti.⁵⁶

2.1. METABOLIČKE BOLESTI

2.1.1. Pretilost

Pretilost je sustavna kronična bolest koja je okarakterizirana prekomjernim nakupljanjem tjelesnih masnoća. Poznato je da je pretilost uzrokovana poremećajem energetske ravnoteže u tijelu. Tada količina unesene energije uvelike prevazilazi potrebe za istom. Povezana je i s nizom drugih stanja, uključujući akutna i smrtonosna kardiovaskularna stanja poput infarkta i moždanog udara. Brojne studije povezuju pretilost i uz razvoj tip 2 dijabetesa, oboljenja jetre, hipertenzije i raka. Potrebno je uzeti u obzir sve čimbenike koji su povezani s pretilosti prije donošenja konačnih zaključaka. Broj pretilih osoba u posljednjih 40 godina znatno se povećao, no i dalje ima snažnu tendenciju rasta. Zabrinjavajuće je to da se, unutar tog perioda, stopa pretilosti kod djece utrostručila ako gledamo samo Sjedinjene Američke Države, no i podaci iz ostalih zemalja ne daju previše razloga za sreću i optimizam. Pretilost i uz nju vezane metaboličke komplikacije predstavljaju jedan od glavnih problema današnjeg javnog zdravstva. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije za 2020. godinu, više od 1,9 milijarde ljudi ima prekomjernu tjelesnu masu, dok je preko 650 milijuna osoba pretilo.

Sve više studija ukazuje na to da crijevna mikroflore igra važnu ulogu kod razvoja pretilosti. Promjene sastava crijevne mikroflore, kod pretilih osoba, ometa iskorištenje energije i regulaciju gladi. Kod pretilih osoba prevladava disbioza crijevne mikroflore, a ona izravno smanjuje raznolikost i bogatsvo crijevnih mikroba. Čestim konzumiranjem hrane koja obiluje mastima, broj gram-negativnih bakterija se povećava. Pretile životinje, u usporedbi s mršavim, u svojoj crijevnoj mikroflore redovito su imale veću prisutnost bakterijske vrste *Firmicutes*, a

manju prisutnost *Bacteroidetes*. Naknadnim istraživanjima, prisutnost većeg broja ovih bakterijskih vrsta dokazana je i kod pretilih ljudi. Smatra se da ovakve promjene utječu na ukupnu metaboličku aktivnost crijevne mikroflore. To pak djeluje na sposobnost organizma pojedinca da iz hrane ekstrahira energiju i uskladišti je u masno tkivo. Crijevna mikroflora pretilih osoba sadrži veći broj enzima koji razgrađuje polisaharide, a to izravno utječe na taloženje masti u masnom tkivu. Povećanje brojnosti *Firmicutes* moglo bi se pripisati i obogaćivanju bakterijske klase *Mollicutes*, jer je njegov genom obogaćen jednostavnim šećerima i njihovom fermentacijom. Kod ljudi bi se, gubitkom tjelesne mase, broj *Bacteroidetes* povećao, dok bi broj *Firmicutes* opao. Identificirana su 4 bakterijska mehanizma koja za posljedicu imaju veću ekstrakciju energije iz hrane koju čovjek konzumira - a) crijevna mikroflora povećava bioraspoloživost energije zbog pretvaranja neprobavljive hrane u biokemijski apsorbirajuće hranjive tvari; b) utjecaj bakterijskog metabolizma na pokretanje sinteze triglicerida; c) prehrana s visokim udjelom masti potiče mikrobnu pretvorbu kolina u metilamine, pri čemu nastali deficit kolina izaziva i potiče bolesti jetre; d) mikrobiom regulira ekspresiju crijevnih gena na način da pogoduje pretilom stanju (Satyanarayana, Johri i Das, 2019). Lipopolisaharidi pojedinih gram-negativnih bakterija izazivaju povećanje broja upalnih reakcija gastrointestinalnog trakta. To je izravno posljedica prevelikog unosa hrane bogate mastima. Miševi hranjeni hranom bogatom mastima pokazivali su znakove endotoksemije (prisutnost endotoksina u krvi), a uz to imali su i povećan omjer gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija. Kronična metabolička endotoksemija izaziva pretilost i inzulinsku rezistenciju. Kratkolančane masne kiseline, poput acetata, propionata i butirata, glavni su produkti fermentacije prehrambenih vlakana koja metaboliziraju crijevne bakterije. Brojna istraživanja sugeriraju da su signalni putevi, kratkolančanih masnih kiselina, posrednici između crijevne mikroflore i metabolizma domaćina. Crijevna glukoneogeneza ima blagotvoran učinak na regulaciju homeostaze glukoze i energije. Butirat izravno potiče crijevnju glukoneogenezu promicanjem aktivnosti glukoza-6-fosfataze i izražaja fosfoenolpiruvat karboksikinaze.

Dokazano je da je konzumacija jogurta iznenađujuće učinkovita protiv pretilosti, koja se razvila kao posljedica starenja. Unošenjem probiotika hranom, mijenjamo crijevnju mikrofloru, čime možemo utjecati na zdravlje crijeva, te na udaljena tkiva i cjelokupno zdravlje i dugovječnost organizma. Probiotici i prebiotici također se mogu koristiti i kao kombinacija,

u vidu sinbiotika, za borbu protiv pretilosti. Mikrobiom se može modificirati i putem transplantacije fekalne mikroflore. Osim probiotika, za borbu protiv pretilosti, kod ljudi, mogu se koristiti i druge crijevne bakterije poput *Bacteroidetes spp.* Navedena bakterija i neki drugi pripadnici reda *Bacteroidetes*, prema mišljenju brojnih istražitelja, pružaju ljudima zaštitu od povišenih masnoća.^{5,56,85-90}

2.1.2. Tip 2 diabetes

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije za 2016. godinu, od dijabetesa, uključujući tip 1 i tip 2, do 2035. godine moglo bi oboljeti 592 milijuna ljudi. Na taj način dijabetes bi postao treća glavna bolest iza raka i kardiovaskularnih oboljenja. Tip 2 dijabetes je metabolički poremećaj kojeg karakterizira simptom inzulinske rezistencije.

Inzulinska rezistencija također spada u metaboličke poremećaje. Ona nastaje kada stanice u mišićima, masti i jetri više ne reagiraju dobro na inzulin i zbog toga ne mogu koristiti glukozu iz krvi za izvor energije. Gušterača to nadoknađuje izlučivanjem veće količina inzulina u krv. To će neko vrijeme i funkcionirati, a razine šećera u krvi ostat će normalne. S vremenom, gušterača neće to više moći pratiti. Ukoliko ne promijenimo način prehrane i tjelovježbe, razina šećera u krvi rasti će dok ne razvijemo simptome predijabetesa. Inzulinska rezistencija povezana je uz brojna druga oboljenja i poremećaje uključujući pretilost, visok krvni tlak, visoke razine kolesterola i dijabetes tip 2. Ona je, uz dijabetes tipa 2, povezana je s djelovanjem bakterijskih vrsta poput *Prevotella copri* i *Bacteroides vulgates* (Wang i sur., 2017).

Smatra se da je pretilost povezana s pojavom i razvojem dijabetesa tipa 2 kod ljudi. U posljednje vrijeme sve je više dokaza koji ukazuju da je promjena crijevne mikroflore povezana s razvojem tip 2 dijabetesa. Sve veći broj studija ukazuje da dijabetičari tipa 2 imaju crijevnu mikrofloru manje raznolikosti i otpornosti, a to izravno pripisuju dijabetesu tipa 2. Mehanizmi koji uzrokuju ovu bolest povezani su možda s translokacijom crijevne mikroflore od crijeva do tkiva, čime upalne reakcije bivaju potaknute. Stoga, pretilost i s njom povezane metaboličke komplikacije, mogu biti posljedica složenih gen-okruženje interakcija. Crijevna mikroflora, kod dijabetičara, ima sposobnost da utječe na izraženost dijabetesa i put razgradnje kolina. To nam naglašava potencijal crijevne mikroflore da pomogne kod etiologije i izražaja ove bolesti. 16S rRNA pirosekvencioniranje pokazalo je da su, kod osoba koje boluju od tip 2 dijabetesa, omjer *Bacteroidetes/Firmicutes* i prisutnost klase *Betaproteobacteria* bili

veći, nego kod zdravih osoba. Nasuprot tome, udio soja *Clostridium* bio je značajno manji, kod osoba koje boluju od dijabetesa tipa 2, nego kod zdravih pojedinaca. Kako bi doznali da li se disbioza crijevne mikroflore događa prije ili poslije dijabetesa, Zhang i sur. (2013) otkrili su da su osobe prije dijabetesa imale znatno manju brojnost *Verrucomicrobia* u usporedbi s osobama čija su tijela imala normalnu toleranciju na glukozu. To je ukazivalo na to da bi se prisutnost *Verrucomicrobia* mogla koristiti kao dijagnostički marker kod napredovanja dijabetesa tipa 2. Metagenomska analiza pokazala je da je crijevna mikroflora, dijabetičara tipa 2, bila obogaćena oportunističkim patogenima uključujući *Clostridium symbiosum*, *Eggerthella lenta* and *Escherichia coli*. Mikrobna funkcionalna analiza utvrdila je da je crijevna mikroflora, dijabetičara tipa 2, poticala razvoj i napredovanje oksidativnog stresa, metabolizam metana i redukciju sulfata u organizmu. Kod populacije, koja boluje od dijabetesa tipa 2, utvrđeno je povećanje metabolizma škroba, glukoze, fruktoze, kao i ABC prijenosnika i sinteze glutationa. Metabolizam osoba, koje imaju normalnu toleranciju na glukozu, karakteriziran je pojačanim metabolizmom riboflavina.^{56,86,88,91-93}

2.1.3. Kardiovaskularne bolesti

Poznato je da su kardiovaskularne bolesti vodeći globalni uzrok smrti. Ateroskleroza, koja čini oko 50 % svih kardiovaskularnih oboljenja, glavni je uzrok bolesti srca, cerebralnog infarkta i perifernih vaskularnih oboljenja. Nedavno istraživanje utvrdilo je vezu između crijevne mikrobiote i kardiovaskularnih bolesti. Kao dokaz naveli su bakterijsku translokaciju iz crijeva do srca domaćina. Žive bakterije i bakterijski DNK pronađeni su u aterosklerotičnim ugrušcima, što ukazuje na to da je crijevna mikroflora uključena u razvoj i napredovanje ateroskleroze. Crijevna mikroflora pacijenata, koji su imali simptome ateroskleroze, bila je obogaćena bakterijskim rodovima *Collinsella*, dok su rodovi *Roseburia* i *Eubacterium*, uz tri vrste *Bacteroides*, bili umjereno i kontrolirano obogaćeni. U međuvremenu studije na životinjama i ljudima pokazale su da bi crijevna disbakterioza, kod ateroskleroze, mogla povećati propusnost crijeva, a samim time uvećati i apsorpciju lipopolisaharida u cirkulatornom sustavu. Stoga, neizravna ili izravna infekcija, stanica stijenke krvnih žila, mogla bi utjecati na razvoj aterosklerotičnih ugrušaka. Na funkcionalnoj razini, crijevna mikroflora pacijenata, koji boluju od ateroskleroze, bila je obogaćena genima koji se vezani uz biosintezu peptidoglikana. Nasuprot tome, kod zdravih osoba bili su obogaćeni geni dehidrogenaze. Dodavanjem kolina, betaina i trimetilamin N-oksida, koji su metaboliti lipida, normalnoj prehrani miševa, uočen je

veći rizik razvoja ateroskleroze. Međutim, potiskivanje crijevne mikroflore antibioticima širokog spektra, rezultiralo je potpunim inhibiranjem prehrambenih kolina koji su povezani s razvojem ateroskleroze kod miševa. Studije na ljudima pokazale su da crijevna mikroflora ima nezaobilaznu ulogu kod proizvodnje plazmatskog trimetilamin N-oksida, koji je značajno povezan uz razvoj brojnih štetnih kardiovaskularnih stanja. Jedna druga studija dokazala je da trimetilamin N-oksid izravno promiče hiperaktivnost trombocita povećanjem otpuštanja Ca^{2+} iona i time uvećavajući potencijalni rizik od tromboze. Ciljana inhibicija mikrobne proizvodnje trimetilamina, pomoću strukturnog analoga kolina, pokazala je nedavno da umanjuje pojavu i razvoj ateroskleroze. Reguliranje crijevne mikroflore može poslužiti kao terapijska strategija kod liječenja organizma od kardiovaskularnih oboljenja.^{56,87}

Hipertenzija, koja se manifestira povećanjem krvnog tlaka, jedna je od dijelova metaboličkog sindroma. Ona predstavlja primarni faktor rizika kod razvoja kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti. Novi dokazi učvrstili su tvrdnju prema kojoj je crijevna mikroflora neophodna za održavanje fiziološke homeostaze. Studije na ljudima i životinjama pokazale se povezanost između disbioze crijevne mikroflore i visokog krvnog tlaka. Disbioza bogatstva, raznolikosti i omjera *Firmicutes/Bacteroidetes* u crijevnoj mikroflori povezana je s pojavom i razvojem hipertenzije kod životinja, ali i ljudi. Ove promjene popraćene su smanjenjem mikrobne populacije koja proizvodi octenu kiselinu i butirat. Prema nekim istraživanjima razlika u raznovrsnosti i brojnosti crijevne mikroflore, zdravih ljudi i ljudi koji imaju hipertenziju, bila je velika. Presađivanjem fecesa, ljudi koji boluju od hipertenzije, u sterilne miševe, primijećeno je da se povišen krvni tlak može prenijeti putem crijevne mikroflore. Time je potvrđen izravni učinak crijevne mikroflore na krvni tlak domaćina.^{86,94}

2.1.4. Bolesti jetre

Jetra je jedan od najvažnijih metaboličkih organa u ljudskom organizmu. 70 % krvi koju jetra prima dolazi iz crijeva putem portalne vene. Stoga, jetra je stalno izložena čimbenicima crijeva, poput bakterija i njihovih metabolita, endotoksina (lipopolisaharid, flagelin i dr.) i peptidoglikana. Više jetrenih stanica, uključujući Kupffer-ove stanice, sinusoidne stanice, bilijarne epitelne stanice i hepatocite, sadrži receptore koji reagiraju i prepoznaju stalni priljev ovih proizvoda crijevne mikroflore. Danas je poznato da je promjena sastava crijevne mikroflore izravno povezana s nekoliko bolesti jetre, poput bezalkoholne masne bolesti jetre, jetrene encefalopatije i ciroze jetre. Sekvencioniranjem RNA dokazana je veća prisutnost

Alistipes i *Prevotella* kod zdravih osoba u odnosu na one koje boluju od bezalkoholne masne bolesti jetre. S druge strane, kod oboljelih od ove bolesti, uočen je suvišak *Escherichia*, *Anaerobacter*, *Lactobacillus* i *Streptococcus* u crijevnoj mikroflori, u odnosu na zdrave pojedince. U usporedbi sa zdravim osobama, crijevna mikroflora, osobe koja boluje od hepatitis B ciroze jetre, imala je manju brojnost *Bacteroides* and *Clostridium*, koji su bili ključni za metabolizam žučne kiseline u crijevima (Wei X i sur., 2013). Neke mikrobne funkcije poput, proizvodnje amonijaka, sustava fosfotransferaze i membranskog prijenosa, bile su obogaćene kod ljudi koji boluju od ciroze jetre. Druge funkcije, poput metabolizma ugljikohidrata i aminokiselina bile su umjereno obogaćene. Crijevna bakterijska translokacija možda biti čimbenik koji utječe na pojavu i razvoj upalnih oboljenja jetre. Imunološki odgovori mogu biti povezani s mikrobnim oboljenjima jetre. Kod pacijenata s virusnom hepatitis C infekcijom, sposobnost njihovih protubakterijskih antitijela da ubiju crijevne bakterije bila je oslabljena. Nedavno istraživanje izvijestilo je o tome da crijevna mikroflora sudjeluje u sazrijevanju imunološkog sustava jetre i tako izravno utječe na uklanjanje virusne hepatitis B infekcije. Enterohepatična cirkulacija drugi je ključni mehanizam koji izravno povezuje crijevnú mikrofloru i jetru. Kod enterohepatične cirkulacije, žučne soli sintetizirane u jetri izlučuju se u crijevni trakt, gdje se mogu biti metabolizirane od strane crijevne mikroflore. Neke studije sugeriraju da žučna kiselina može odigrati ključnu ulogu u regulaciji sastava crijevne mikroflore. Zauzvrat, zajednica crijevne mikroflore također može imati aktivan učinak na tjelesne funkcije jetre. Metabolizam kolina iz hrane, posredstvom crijevne mikroflore, mogao bi pridonijeti razvoju bezalkoholne masne bolesti jetre. Nadalje, upalna disbioza crijevne mikroflore također može biti važan čimbenik u pojavi i razvoju bezalkoholne masne bolesti jetre. Okarakteriziranje prirode crijevne disbioze, integriteta crijevne barijere i mehanizama hepatičnih imunoloških odgovora, pomoći će razvoju novih terapija za liječenje kroničnih bolesti jetre.^{56,91,95,96}

2.2. BOLESTI IMUNOLOŠKOG SUSTAVA

Ključna funkcionalna uloga imunološkog sustava uključuje zaštitu domaćina od infekcija koje su rezultat djelovanja egzogenih oportunističkih patogena. Mnogi dokazi upućuju na postojanje dvosmjernog odnosa između crijevne mikroflore i imunološkog sustava. Odnosno, crijevna mikroflora utječe na funkcije imunološkog sustava i obratno. Homeostaza njihovog

odnosa može biti posljedica dugotrajne koevolucije između domaćina i s njim povezanih mikroba. Međutim, poremećaj ove ravnoteža može pridonijeti pojavi i razvoju različitih imunoloških bolesti.⁵⁶

2.2.1. Upalne bolesti crijeva

Upalne bolesti crijeva su skupina upalnih poremećaja tankog i debelog crijeva koji su uzrokovani napadima imunološkog sustava. Javljaju se najčešće u obliku Crohn-ove bolesti i ulceroznog kolitisa. Ulcerozni kolitis djelovanjem je ograničen samo na debelo crijevo, za razliku od Crohn-ove bolesti koja utječe i na tanko crijevo. Ovi poremećaji, uglavnom, utječu na gastrointestinalni trakt. Crijevna mikroflora može odigrati ključnu ulogu kod pokretanja i razvoja ovih poremećaja. Ona je kod pacijenata, koji boluju od upalne bolesti crijeva, okarakterizirana većom prisutnosti *Ruminococcus gnavus*, a manjom brojnosti *Dialister invisus*, *Faecalibacterium prausnitzii* i *Bifidobacterium adolescentis*. Štoviše, u crijevnom traktu pacijenata koji boluju od ove bolesti, otkriveno je i povećanje brojnosti *Actinobacteria* i *Proteobacteria* te smanjenje broja *Bacteroidetes* i *Lachnospiraceae*. Bakterijske vrste koje doprinose pojavi i razvoju, upalne bolesti crijeva, moraju se moći suočiti s oksidativnim stresom, pri čemu je on definiran kao neravnoteža između slobodnih radikala i antioksidansa u tijelu čovjeka. Korištenje antibiotika tijekom trudnoće povezano je s povišenim rizikom od razvoja vrlo ranog oblika upalne bolesti crijeva. Taj rizik može se pripisati promjenama u crijevnoj mikroflori trudnice. Probiotik soja *Lactobacillus gasseri* SF1138 pokazao je protuupalno djelovanje kod istraživanja na miševima. On je također u stanju održavati integritet crijeвне barijere, sugerirajući njezinu zaštitnu ulogu protiv upalnih bolesti crijeva. Zanimljivo je da *Lactobacillus gasseri* SF1138 ne mijenja sastav disbiotičke mikroflore. Sumnja se da on luči molekule koje djeluju skupa s crijevnim stanicama i tako pruža zaštitu od upalnih bolesti crijeva.

Crohn-ova bolest je kronična upalna bolest crijeva koja nastaje složenim interakcijama između ekoloških, mikrobioloških i domaćinskih čimbenika rizika. Iako domaće mikrobne zajednice gastrointestinalnog trakta igraju ulogu u etiologiji bolesti, njihov točan doprinos nije poznat. Ispitivanje povezanosti crijeвне mikroflore i Crohn-ove bolesti zahtijevan je zadatak iz nekoliko razloga. Stabilne mikrobne zajednice crijevnog trakta čine dinamički sustav na koji utječe više čimbenika, uključujući genetiku domaćina, dob, stanje bolesti, trajanje bolesti, način života (prehrana, pušenje), pretilost, uporabu lijekova (antibiotici, imunosupresivni

lijekovi) i prethodne operacije. Crijevna mikroflora, kod ljudi koji boluju od Crohn-ove bolesti pokazala je značajno nižu bakterijsku raznolikost, u usporedbi s onom kod zdravih pojedinaca. To može biti posljedica smanjenja brojnosti *Clostridium leptum*, filogenetske bakterijske skupine, koja pripada redu *Firmicutes*. Druga istraživanja na pacijentima, koji boluju od Crohn-ove bolesti, pokazala su promjene sastava crijeвне mikroflore, uključujući povećanje brojnosti *Enterobacteriaceae* i *Ruminococcus gnavus*, kao i smanjenje brojnosti *Faecalibacterium* i *Roseburia*. Osim ovih bakterija, u crijevima pacijenata pronađena je još i protuupalna domaća bakterija *Faecalibacterium prausnitzii*. Ova bakterija povezana je s visokim rizikom od endoskopskog recidiva (vraćanja) nakon kirurške resekcije (Sokol H i sur., 2008).

Ulcerozni kolitis je kronični upalni poremećaj debelog crijeva. Upala sluznice crijeva dovodi do stvaranja sitnih otvorenih čireva, koji vremenom počinju oslobađati gnoj i sluzi. Ovom bolesti mogu biti zaraženi dijelovi debelog crijeva (silazno crijevo, sigmoidno crijevo, rektum itd.) ili cijelo debelo crijevo. Uz ulcerozni kolitis najčešće vezani su krvavi proljevi i bolovi u trbuhu. Najveći broj godišnjih slučajeva ulceroznog kolitisa zabilježen je kod bijelaca iz Sjedinjenih Američkih Država. To može ukazivati na povezanost načina života i drugih čimbenika okoliša s pojavom i razvojem ulceroznog kolitisa. Za sada je nemoguće točno imenovati je li i koja bakterijska vrsta je pokretačka sila ove bolesti. Međutim, istraživanja pokazala su da je biološka raznolikost crijeвне mikroflore, oboljelih osoba, manja i ugroženija nego kod zdravih osoba. Istraživanja na oboljelim osobama pokazala su značajan pad brojnosti *A. muciniphila*, *Ruminococcus gnavus* i *Butyricicoccus pullicaecoru* u njihovoj crijevnoj mikroflori. Ova rasprostranjenost i oskudica pojedinih crijevnih bakterijskih vrsta djeluje različitim načinima na diferencijaciju T-limfocita, što otvara put upalama, a na koncu i ulceroznom kolitisu. Stoga, mnogi istraživači smatraju da je uzrok ulceroznog kolitisa nenormalan imunološki odgovor imunološkog sustava.^{5,56,85,86,97}

2.2.2. Sindrom iritabilnog crijeva

Sindrom iritabilnog crijeva čest je funkcionalni gastrointestinalni poremećaj. Kao simptome on često uključuje proljev, zatvor, nadutost i nadutost trbuha. Točni uzročnici ovog poremećaja još uvijek nisu poznati jer njegova pojava i razvoj ovise o mnogim čimbenicima. Sindrom iritabilnog crijeva, kod ljudi, ponekad se može razviti nakon oporavka od infekcija. To upućuje da infekcije mogu biti posrednici kod pojave i razvoja poremećaja crijeвне mikroflore u crijevima domaćina. Postinfektivni sindrom iritabilnog crijeva može se ublažiti unošenjem

probiotičkih bakterija u organizam koje normaliziraju mišićnu hiperkontraktilnost. Uzimajući sve navedeno u obzir, možemo reći da poremećaj crijevne mikroflore, nakon infekcije, doprinosi patofiziologiji sindroma iritabilnog crijeva. Kod crijevne mikroflore pacijenata, koji boluju od sindroma iritabilnog crijeva, zabilježen je porast *Firmicutes*, dok je broj *Bacteroidetes* zabilježio pad. Konkretno ovi pacijenti, u svojim crijevima, imali su povećanje brojnosti *Dorea*, *Ruminococcus* i *Clostridium*, dok se broj *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* i metanogena smanjio. Neki autori smatraju da su *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* možda odgovorni za patofiziologiju sindroma iritabilnog crijeva. Općenito, sindrom iritabilnog crijeva može se podijeliti na tri dominantna podtipa: 1. podtip kod kojeg dominira proljev, 2. podtip kod kojeg dominira zatvor i 3. mješoviti podtip. Pacijenti, koji su istovremeno bolovali od različitih podtipova, imali su drugačiji sastav crijevne mikroflore. Zabilježeno je značajno povećanje brojnosti *Lachnospiraceae*, koji pripada redu *Firmicutes*, kod ljudi koji su bolovali od 1. podtipa sindroma iritabilnog crijeva. Međutim, osobe koje su bolovale od 2. podtipa sindroma iritabilnog crijeva, imale su veliku zastupljenost *Veillonella spp* u svojoj crijevnoj mikrofiori.^{56,89}

2.2.3. Tip 1 diabetes

Tip 1 diabetes je autoimuni poremećaj koji nastaje kada samoreagirajući T-limfociti započnu s uništavanjem β -stanica gušterače, koje proizvode inzulin. Povezanost tip 1 diabetesa i crijevne mikroflore dokazana je u brojnim istraživanjima, no za takvu korelaciju donedavno nije se znalo. Neke promjene u prehrani, koje su utjecale na smanjenje brojnosti cecalnih bakterija u crijevnoj mikrofiori, pokazale su se dobrom mjerom zaštite od razvoja tip 1 diabetesa. U usporedbi sa zdravom djecom, djeca s tip 1 diabetesom imala su smanjenu raznolikost crijevne mikroflore. Smanjenje *Firmicutes* i povećanje brojnosti *Bacteroidetes* pronađeni su kod djece koja su postupno razvila tip 1 diabetes. Na razini roda, *Veillonella*, *Clostridium* i *Bacteroides* zabilježili su porast, dok su *Lactobacillus*, *Prevotella* i *Bifidobacterium* zabilježili značajan pad brojnosti u crijevnoj mikrofiori djece koja boluje od ove bolesti. Crijevna mikroflora oboljele djece također imala je veliku zastupljenost klase *Bacilli* (s naglaskom na streptokoke). Bakterije koje proizvode butirat, s naglaskom na rod *Clostridium*, bile su brojnije kod djece koja boluju od tip 1 diabetesa. Većina istraživanja, vezanih uz tip 1 diabetes, ukazuje da pojedine crijevne bakterije mogu igrati ključnu ulogu kod razvoja ili zaštite od ove bolesti.^{56,89}

2.3. NEUROLOŠKE BOLESTI

Povezanost crijevne mikroflore, razvoja mozga i ponašanja polako postaje područje interesa sve većeg broj istražitelja. Istraživanja na miševima bez klica (miševi koje karakterizira nedostak bilo kakvih mikroorganizama; smješteni su izolatore pod strogo kontroliranim i nadziranim uvjetima koji onemogućavaju njihovu kontaminaciju mikroorganizmima), u usporedbi s miševima bez specifičnog patogena, pokazala su povećanu motornu aktivnost i manju učestalost pojave ponašanja, koja nalikuju tjeskobi, kod tih miševa. Miševi bez klice također su doživjeli značajna društvena oštećenja i bili su podložniji obuzdavajućem stresu nego miševi bez specifičnog patogena. Odnos između crijevne mikrobiote i mozga može biti dvosmjernan. Izloženost društvenim poremećajima rezultirala je povećanjem brojnosti *Clostridium* i smanjenjem broja *Bacteroides*, a to je povezano s povećanjem razine cirkulirajućih citokina. Osim toga, stres u ranom životu također bi mogao biti važan čimbenik sastava crijevne mikroflore.^{56,98-100}

2.3.1. Autizam

Poremećaji autističnog spektra skupina su ozbiljnih neuroloških poremećaja o čijem se uzroku mnogo malo zna. Njih karakterizira prisutnost stereotipnog ponašanja, a ponašanje odlikuju problemi s govorom i društvenom interakcijom. Veza između autizma i crijevne mikroflore utemeljena je na sljedećim zapažanjima: 1) bolest često slijedi antimikrobnu terapiju, 2) gastrointestinalni problemi često su prisutni na početku autizma i često ustraju, i 3) simptomi autizma bivaju smanjeni uslijed oralnog liječenja vankomicinom, dok bi se recidiv javio nakon prestanka liječenja (Finegold i sur., 2002; Sandler i sur., 2000).

Djeca s autizmom, nerijetko, imaju učestale gastrointestinalne probleme. Ti problemi mogli bi biti povezani uz promjenu sastava i raznolikosti crijevne mikroflore. Učestala upotreba antibiotika povezana je s razvojem kasnog autizma kod djece starosti 18-24 mjeseca. Pri tome se pretpostavlja da poremećaji, normalne mikroflore, mogu dopustiti i olakšati kolonizaciju bakterija koje proizvode neurotoksine (*Clostridium tetani*). *Desulfovibrio*, bakterijski rod koji reducira sulfat, može pridonijeti razvoju regresivnog tipa autizma. Metabolit crijevne mikroflore, 4-etilfenilsulfat, može izazvati nenormalnosti u ponašanju koje povezujemo s poremećajima autističnog spektra. Neki znanstvenici predložili su niz mehanizama pomoću kojih bi crijevna mikroflora mogla biti odgovorna za slabljenje regresivnog autizma. Mehanizmi su uključivali proizvodnju neurotoksina abnormalne flore, proizvodnju

autoantitijela što rezultira napadom na proteine povezane se neuronima, ili mikrobnu proizvodnju otrovnih metabolita koji imaju neurološke nuspojave.^{56,89,99,100}

2.3.2. Multipla skleroza

Multipla skleroza je imunitetom-posredovani upalni poremećaj središnjeg živčanog sustava i karakteriziran je progresivnim pogoršanjem neuroloških funkcija. Eksperimentalni miševi koji su bolovali od autoimunog encefalitisa, pokazali su simptome slične onima koje susrećemo kod pacijenata koji boluju od multiple skleroze. U usporedbi s miševima bez specifičnog patogena, miševi bez klice pokazali su oslabljene simptome autoimunog encefalitisa. Simptomi ove bolesti, kod miševa bez specifičnog patogena, značajno su bili pojačani nakon kolonizacije crijevne mikroflore, ovih miševa, segmentiranim nitastim bakterijama. Bakterijski posredovani signali, iz crijeva u mozak, možda se izravno prenose putem dovodnih vagalnih živaca. Sukladno tome, crijevna mikroflore mogla bi biti važan čimbenik kod početka razvoja spontanih demijelinizirajućih autoimunih bolesti. Za liječenje multiple skleroze možda bi mogla poslužiti transplantacija fekalne mikroflore (Schmidt, 2019). Ovaj tretman također bi se mogao koristiti pri liječenju drugih bolesti, uključujući i druge autoimune i neurološke poremećaje, pretilost, sindrom kroničnog umora i autizam. Uspješnost ovih tretmana znala je jako odstupati, a uz to je i broj sudionika bio još uvijek dosta malen. Ipak, transplantacija fekalne mikroflore utjecala je na obnavljanje odgovarajuće raznolikosti crijevne mikroflore. Posljedično tome, uzimanje u obzir mikrobne funkcije gastrointestinalnog trakta, predstavlja održiv i obećavajući pristup kod liječenja bolesti i stanja koji ne reagiraju na liječenje.^{56,101}

3. PROBIOTICI I PREBIOTICI

Osnovna uloga hrane je opskrbljivanje organizma hranjivim tvarima potrebnim za rast i razvoj organizma. Osim ove uloge hrane, svijest o utjecaju iste na zdravlje i suzbijanje bolesti kod ljudi sve je raširenija, polako postaje i područje interesa sve većeg broja istražitelja. U svijetu procesirane hrane, posebna pozornost posvećuje se sastavu i sigurnosti konzumirane hrane. Kvaliteta hrane bitna je zbog brojnih problema koji su uz nju izravnu povezani, uključujući trovanje hranom, pretilost, alergije, kardiovaskularne bolesti i razvoj raka – kuge 21. stoljeća. Probiotici, ulaskom u organizam postaju sastavni dio naše crijevne mikroflore. Na taj način dobivaju mogućnost da utječu na naš organizam. Dok prebiotici, uglavnom, služe kao „hrana“ probiotskim mikroorganizmima i podržavaju njihov razvoj. Mnoga istraživanja ukazuju na, prije svega zdravstvene, prednosti prilikom korištenja probiotika i prebiotika u prehrani.¹⁰²

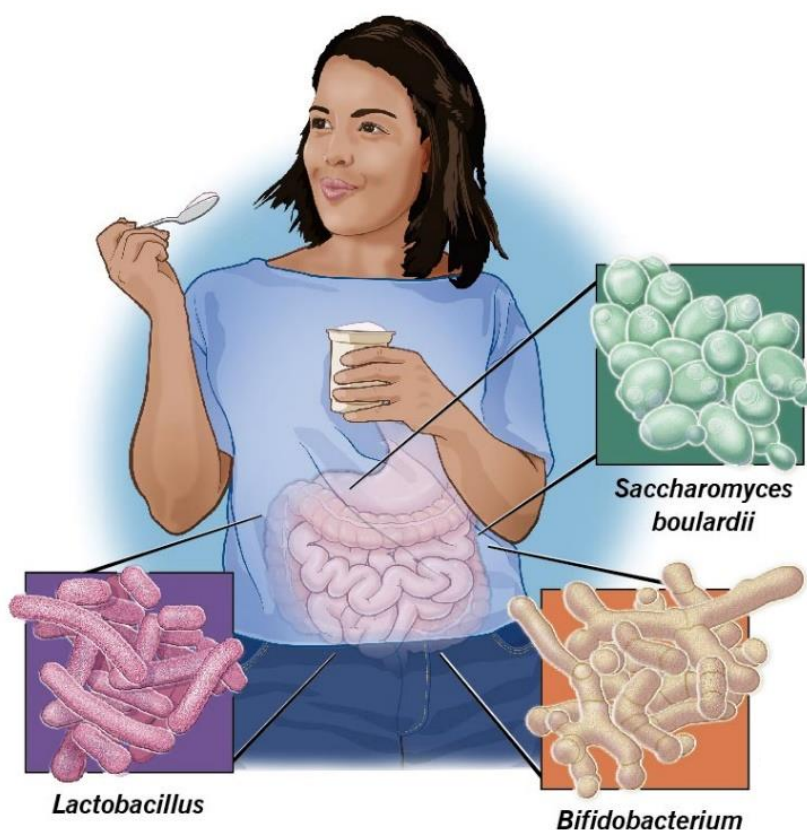
3.1. PROBIOTICI

3.1.1. Općenito

Prema definiciji Organizacije za hranu i poljoprivredu i Svjetske zdravstvene organizacije, probiotici su „živi organizmi koji, kada primijenjeni u odgovarajućim količinama, domaćinu pružaju zdravstvenu korist“. Definirani su još i kao nepatogeni organizmi koji, jednom uneseni u organizam, pozitivno djeluju na zdravlje ili fiziologiju domaćina. Riječ „probiotik“ dolazi iz grčkog jezika i označava pojam „za život“. Neki od najpoznatijih probiotika koji se naširoko koriste za poboljšanje zdravstvenog stanja kod ljudi, su: *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, neki pripadnici *Bifidobacterium* i određeni sojevi *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus coagulans*, Nissle 1917 soj *Escherichia coli*, pojedini pripadnici *Enterococcus*, prije svega *Enterococcus faecium* SF68, i kvasac *Saccharomyces boulardii*. Prikaz najučestalijih probiotika kod ljudi možemo vidjeti na slici 8, dok su na slici 9 prikazani neki izvori probiotika. Na tržištu koriste se i sporogene bakterije. Uglavnom dominiraju sporogene bakterije roda *Bacillus*. Stalno se pojavljuju novi rodovi i sojevi probiotika zahvaljujući naprednijim i usredotočenijim istraživačkim naporima. Probiotici mogu sadržavati jedan soj ili mješavinu mikrobnih sojeva. Učinci pojedinog soja te toga soja u sastavu kompleksne mikrobne kulture, na zdravlje ljudi su vrlo specifični i stoga se ne mogu

generalizirati. Broj istraživanja o probioticima, osobito *Lactobacilli*, naglo je porastao u protekla dva desetljeća. U periodu 1980-2000 objavljeno je 180 znanstvenih radova vezanih uz probiotike. Taj broj za period 2000-2014 prešao je broj od 5700 znanstvenih radova. Organizacija za hranu i poljoprivredu (FAO) i Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) izradile su smjernice kako bi potakli sustavan i učinkovit pristup kod procjene, zdravstvenih tvrdnji i dobrobiti, probiotika u hrani. Smjernice zahtijevaju izvođenje sljedećih aktivnosti:

1. Identifikacija soja
2. Funkcionalna karakterizacija soja/sojeva zbog sigurnosti i probiotičkih svojstava
3. Potkrjepljivanje zdravstvenih koristi istraživanjima na ljudima
4. Tvrdnje o učinkovitosti i sadržaju moraju biti iskrene i ne smiju biti zavaravajuće za cijeli vijek trajanja^{56,102,103}



Slika 8. Prikaz najučestalijih probiotika kod ljudi¹⁰⁴



Probiotici kod ljudi obavljaju brojne korisne funkcije, uključujući sposobnost proizvodnje vitamina i antioksidansa i obranu organizma od napada natjecateljskih patogena. Nadalje, probiotici učinkovito inhibiraju razvoj patogenih bakterija, poput *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni* te razne vrste *Shigella* i *Yersinia*. Nekoliko drugih pozitivnih učinaka probiotika povezano je s procesima probave hrane. Ti učinci uključuju: liječenje alergija na hranu i kandidozu. Probiotički organizmi također su prirodni proizvođači vitamina B kompleksa. Oni također povećavaju učinkovitost imunološkog sustava, ali i poboljšavaju apsorpciju vitamina i mineralnih spojeva. Neki proizvodi metabolizma probiotika, također mogu pokazati antibiotska i antikancerogena svojstva.^{88,102}

3.1.3. Utjecaj probiotika na sastav crijevne mikroflore

Probiotički mikroorganizmi mogu djelovati na crijevnu mikrofloru na načine koji uključuju: smanjenje luminalnog pH, lučenje bakteriocina i sprječavanje bakterijske adhezije na epitelnim stanicama. Uočeno je da prisutnost probiotičkog mikroorganizma *Lactobacillus plantarum* WCFS1 utječe na ekspresiju duodenalnog gena sluznice čovjeka, što se povezuje s uspostavljanjem imunotolerancije kod odraslih ljudi. Dakle, djelovanje probiotika potencijalno može uravnotežiti crijevnu disbiozu i tako oporaviti zdravlje ljudi.⁸⁸

3.1.4. Zdravstveni učinci probiotika

Većina zdravstvenih učinaka probiotika povezana je s izravno ili neizravno s imunološkim sustavom i gastrointestinalnim traktom. Oralno unošenje putem hrane ili lijekova nije jedini razlog zbog kojeg probiotici utječu na navedene sustave. Mehanizmi i učinkovitost probiotičkog djelovanja često ovise o međudjelovanjima sa specifičnom mikroflorom ili imunokompetentnim stanicama crijevne sluznice. Mnogi sojevi probiotičkih bakterija pokazali su da imaju mogućnost privremenog mijenjanja crijevne mikroflore i/ili inhibiranja kolonizacije crijeva (potencijalnim) patogenima, kao i translokacije patogenih bakterija kroz crijevnu stijenku i mogućnost infekcije drugih organa. Utvrđeni i predloženi učinci probiotika na zdravlje su:

- Sprječavanje i/ili smanjenje trajanja simptoma vezanih uz proljev kojeg je potaknula infekcija rotavirusom (Učinak je utemeljen na kliničkim istraživanjima i prihvaćen je od strane znanstvene zajednice.)
- Sprječavanje ili ublažavanje proljeva prouzrokovanog korištenjem antibiotika
- Ublažavanje tegoba kod osoba intolerantnih na laktozu
- Modulacija domaće (obično crijevne) mikroflore
- Regulacija i/ili promjena imuniteta
- Smanjenje koncentracije enzima koji promiču rak, ali i snižavanje koncentracije bakterijskih metabolita truljenja u crijevnoj mikroflori
- Sprječavanje ili ublažavanje alergija i atopijskih bolesti kod dojenčadi (Učinci uočeni kod određenih ciljanih populacija. Međutim, potrebno je provesti još studija kako bi se doznalo koji dijelovi populacije bi mogli profitirati od ovog probiotičkog učinka i pod kojim uvjetima)

-Blagotvorni učinci na mikrobna odstupanja, upale i druge s tim povezane tegobe, uključujući: upalne bolesti probavnog trakta, infekciju *Helicobacter pylori* i prenapli rast bakterijskih populacija.

-Liječenje urogenitalnih infekcija

-Sprječavanje i ublažavanje nespecifičnih i nepravilnih tegoba gastrointestinalnog trakta kod zdravih ljudi

- Sprječavanje infekcija dišnih puteva (uobičajeno prehlade i gripe) i drugih zaraznih bolesti

-Sprječavanje raka (Ovaj učinak također treba još dublje istražiti. Prikupljeni klinički/epidemiološki podaci nisu dovoljni za donošenje konačnih zaključaka.)

-Normalizacija izlučivanja stolice i sastava stolice kod ljudi koji imaju opstipaciju ili boluju od razdražljivog debelog crijeva

-Prevenција za ishemijske bolesti srca

-Poboljšanje stanja kod ljudi koji boluju od autoimunih bolesti

-Hipokolesterolemijski učinak (Nije čvrsta povezanost između ove bolesti i podataka znanstvenih istraživanja.)

-Poboljšanje apsorpcije minerala

-Poboljšanje mikroflore u ustima i sprječavanje razvoja karijesa¹⁰⁶

3.2. PREBIOTICI

3.2.1. Općenito

Prebiotici su definirani kao „neprobavljivi sastojci hrane koji domaćinu pružaju dobrobiti selektivnim poticanjem rasta ili aktivnosti jedne ili ograničene skupine bakterija u debelom crijevu“.

Da bi se nešto moglo smatrati prebiotikom, ono mora zadovoljiti sljedeće kriterije:

-neprobavljivost

-mora moći biti podložan fermentaciji od strane crijevne mikroflore u debelom crijevu

-selektivno poticanje rasta i aktivnosti crijevne mikroflore

Ovisno o svojstvima koja posjeduju, prebiotike možemo podijeliti na one: koji nisu probavljivi ili su djelimično probavljivi, koji se ne mogu apsorbirati u tankom crijevu, koji su slabo fermentirani od strane bakterija usne šupljine, koji su dobro fermentirani od strane, naizgled korisnih, crijevnih bakterija i one koji su slabo fermentirani od strane patogenih bakterija u crijevima. Neki izvori prebiotika su: majčino mlijeko, soja, izvori inulina (poput Jeruzalemske

artičoke, korijenje cikorije itd.), sirova zob, nerafinirana pšenica i ječam, neprobavljivi ugljikohidrati (posebno neprobavljivi oligosaharidi). Prehrambeni ugljikohidrati, uključujući otporne škrobove, neškrobne polisaharide i oligosaharide izravno dopijevaju u debelo crijevo. Onu na taj način izbjegavaju enzime domaćina i djeluju kao glavni supstrat za rast crijevnih bakterija. Te bakterije posjeduju enzime za razgradnju ovih specifičnih ugljikohidrata. Treba napomenuti da ugljikohidrati, proizvedeni posredstvom domaćina, poput mucina i kondroitina, mogu biti fermentirani od strane crijevnih mikroorganizama. Raznolike crijevne bakterije, krajnje proizvode ovih fermentacija mogu koristiti putem unakrsnog metaboličkog hranjenja.^{56,102,103,106} Na slici 10 možemo vidjeti neke izvore prebiotika.



Slika 10. Neki izvori prebiotika¹⁰⁷

3.2.2. Mehanizam djelovanja prebiotika i njihov utjecaj na zdravlje

Sastav i metabolička aktivnost crijevne mikroflore uvelike je pod utjecajem prebiotika. Glavni razlozi tome, uključuju mogućnost prebiotika da: mijenjaju metabolizam lipida, poboljšavaju apsorpciju kalcija, djeluju na imunološki sustav i neke funkcije crijeva. Mogućnost nekih vrsta mikroorganizama da koriste prebiotike kao izvor ugljika i energije ovisi o molekulskoj strukturi prebiotika. Nakon toga, domaćin koristi krajnje proizvode prebiotika, uglavnom ugljikohidrate, kao izvor energije. Probiotički mikroorganizmi mogu fermentirati neprobavljive ugljikohidrate. Oni zatim proizvode neke spojeve koji mogu inhibirati razvoj

gastrointestinalnih patogena. Konzumacija ugljikohidrata iz različitih izvora, posredstvom prebiotika, djeluje na povećanje brojnosti korisnih bakterija, uglavnom iz roda *Bifidobacterium*, u crijevnoj mikroflori. Mehanizmi povoljnih učinaka prebiotika, na imunološke funkcije, ostali su nejasni.

Predloženo je nekoliko mogućih modela:

- 1) Prebiotici su sposobni održavati djelovanje jetrenih lipogenih enzima, utječući na povećanje proizvodnje kratkolančanih masnih kiselina, poput propionske kiseline.
- 2) Smatra se da proizvodnja kratkolančanih masnih kiselina (prije svega butirične) kao posljedica fermentacije, djeluje na acetilaciju histona, čime se povećava dostupnost brojnih gena za transkripcijske čimbenike.
- 3) Utjecaj na proizvodnju mucina.
- 4) Pokazano je da fruktooligosaharidi i nekoliko drugih prebiotika uzrokuju povećanje broja limfocita i/ili leukocita u ,s crijevima povezanim, limfnim tkivima i u perifernoj krvi.
- 5) Povećano izlučivanje IgA antitijela, uz pomoć s crijevima povezanih limfnih tkiva, može stimulirati fagocitozu unutarnjih upalnih makrofaga.

Glavni cilj prebiotika je potaknuće rasta i aktivnosti korisnih bakterija u gastrointestinalnom traktu, što domaćinu pruža zdravstvenu korist. Crijevna mikroflora djeluje kao prepreka za patogene putem različitih mehanizama, uključujući antagonizam (proizvodnja antimikrobnih tvari) i natjecanje za adheziju epitela i hranjivih tvari. Krajnji proizvodi metabolizma ugljikohidrata, uglavnom kratkolančane masne kiseline i to: octenu kiselinu, maslačnu kiselinu i propionsku kiselinu, domaćin je koristio kao izvor energije. Uslijed fermentacije ugljikohidrata, *Bifidobacterium* ili *Lactobacillus* možda mogu proizvesti spojeve koji inhibiraju razvoj gastrointestinalnih patogena, kao i uzrokovati smanjenje crijevnog pH. Štoviše, bakterije roda *Bifidobacterium* pokazale su toleranciju prema proizvedenim kratkolančanim masnim kiselinama i sniženom pH. Stoga, zbog njihovog povoljnog učinka na razvoj korisnih crijevnih bakterija, unosom prebiotika možemo djelovati na inhibiciju razvoja patogena.

Prisutnost prebiotika u prehrani može imati za posljedicu brojne zdravstvene dobrobiti. Istraživanja o raku debelog crijeva pokazala su da se isti rjeđe javljao kod osoba koje su često konzumirale voće i povrće. Taj učinak uglavnom se pripisuje inulinu i oligofruktozi. Češće unošenje prebiotika u organizam može: djelovati na smanjenje razine „lošeg“ LDL-a (lipoproteina niske gustoće) kolesterola u krvi, stimulirati imunološki sustav, povećati

apsorpciju magnezija i kalcija, održavati pH vrijednost crijeva normalnom, ublažiti simptome peptičkog ulkusa i vaginalne mikoze. Drugi učinci inulina i oligofruktoze, na zdravlje čovjeka, uključuju: prevenciju karcinogeneze, ublažavanje simptoma laktozne intolerancije i liječenje karijesa zuba. Dnevno unošenje barem 12 g inulina u organizam, u trajanju od jednog mjeseca, smanjuje razinu VLDL-a (lipoproteina vrlo niske gustoće) u krvi. Pri tome se udio triacilglicerola u krvi smanjio za 27 %, dok se udio kolesterola smanjio za 5 %. Ovaj učinak prebiotika povezan je s njihovim sudjelovanjem u metabolizmu jetre i inhibiciji acetil koenzim A karboksilaze i glukoza-6-fosfat dehidrogenaze. Također pretpostavlja se da oligofruktoza ubrzava razgradnju lipida. Neka istraživanja potvrdila su da su fruktooligosaharidi korisni u borbi protiv infekcija uzrokovanih djelovanjem *Salmonella*, *Typhimurium* i *Listeria monocytogenes*. Štoviše, prebiotici su korisni u borbi protiv patogenih mikroorganizama, kao što su *Salmonella*, *Enteritidis* i *Escherichia coli* te smanjuju razinu pojedinih aromatskih spojeva. Znanstvena istraživanja pokazala su da maslačna kiselina može poslužiti kao kemopreventivni faktor kod karcinogeneze, ili kao sredstvo koje štiti od razvoja raka debelog crijeva, promicanjem stanične diferencijacije. Osim maslačne kiseline, propionska kiselina također može imati protuupalna svojstva značajna oboljelim od raka debelog crijeva. Nadalje, dodatak 5-15 % inulina i oligofruktoze djelovala je na smanjenje vjerojatnosti pojave raka dojke kod štakora. Međutim, ovi rezultati nisu još uvijek potvrđeni kod ljudi.^{88,102,106}

4. ZAKLJUČCI

U ovom radu sažeta su svojstva crijevne mikroflore starijih osoba. Osim njih, obrađena su i svojstva crijevne mikroflore u periodu ranog razvoja. Uspostavljanje „zdrave crijevne mikroflore“ u ranoj dobi od izuzetne je važnosti. Ona pruža zdravstvene dobrobiti tijekom cijelog života. Unošenje prehrambenih vlakana u organizam, pojačava djelovanje crijevne mikroflore na zdravlje. Ono se kod ljudi manifestira produljenjem životnog vijeka i smanjenjem mogućnosti pojave i razvoja različitih bolesti. Prehrana i način života spadaju u ključne okolišne čimbenike crijevne mikroflore. Njihovo djelovanje rezultira različitim crijevnim mikroflorama između pripadnika ruralnih i urbanih zajednica. U radu je također opisana povezanost između crijevne mikroflore i tri skupine bolesti kod ljudi, uključujući, metaboličke, imunološke i neurološke bolesti. Brojna oboljenja povezana su s disbiozom crijevne mikroflore. Upravo to nam ukazuje na ključnu ulogu crijevne mikroflore u ljudskom zdravlju, a ona se odnosi na povezivanje svih dijelova tijela u cjelovit i organiziran biološki sustav. Važno je istaknuti da povezanost između disbioze crijevne mikroflore i pojave nekih bolesti može biti i uzročna i posljedična. Daljnji razvoj naprednog 16S ribosomalnog genskog sekvencioniranja RNA i drugih tehnika omogućit će još bolji uvid u mikroorganizme, koji nastanjuju naša crijeva, i njihova djelovanja na organizam. Kod liječenja određenih bolesti, polako se uvode potencijalne prehrambene strategije, koje mijenjaju sastav crijevne mikroflore (probiotici i prebiotici). Daljnja istraživanja usmjerena su na razjašnjavanje temeljnih mehanizama koji, uopće, omogućavaju zdravstvene dobrobiti crijevne mikroflore. Ipak, nema sumnje da će razvoj i primjena ovih pristupa u budućnosti omogućiti daljnje poboljšanje zdravlja kod ljudi, posredstvom crijevne mikroflore.

5. LITERATURA

1. Marchesi JR, urednik. The Human Microbiota and Microbiome. Boston, Sjedinjene Američke Države: CAB International; 2014.
2. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK i Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 2012;489(7415):220-230.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature11550>
3. Reyes A, Haynes M, Hanson N, Angly FE, Heath AC, Rohwer F, i sur. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature*. 2010;466(7304):334-338.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature09199>
4. URL: <https://www.muhealth.org/conditions-treatments/surgical/bariatric-surgery/getting-started/anatomy-and-function-of-the-gi-tract>. (18.9.2021.)
5. Fredricks DN, urednik. The Human Microbiota: How Microbial Communities Affect Health and Disease. New Jersey, Sjedinjene Američke Države: John Wiley & Sons, Inc.; 2013.
6. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Solvsten Burgdorf K, Manichanh C, i sur. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59-65.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature08821>
7. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peteson DA, i Gordon JI. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science*. 2005;307(5717):1915-1920.
doi: <https://doi.org/10.1126/science.1104816>
8. Zhao L. The gut microbiota and obesity: from correlation to causality. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(9):639-647.
doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3089>
9. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, i sur. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*. 2005;308(5728):1635-1638.
doi: <https://doi.org/10.1126/science.1110591>
10. Goodman AL, Kallstrom G, Faith JJ, Reyes A, Moore A, Dantas G, i sur. Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2011;108(15):6252-6257.
doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1102938108>

11. Walker AW, Duncan SH, Louis P, i Flint HJ. Phylogeny, culturing, and metagenomics of the human gut microbiota. *Trend Biotechnol.* 2014;22(5):267-274.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.03.001>
12. Browne HP, Forster SC, Anonye BO, Kumar N, Neville BA, Stares MD, i sur. Culturing of „unculturable“ human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature.* 2016;533(7604):543-546.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature17645>
13. Ruan W, Engevik MA, Spinler JK, i Versalovic J. Healthy Human Gastrointestinal Microbiome: Composition and Function After a Decade of Exploration. *Dig Dis Sci.* 2020;65(3):695-705.
doi: <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06118-4>
14. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, i sur. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011;473(7346):174-180.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature09944>
15. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, i sur. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* 2013;500(7464):541-546.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature12506>.
16. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, i sur. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature.* 2013;500:585-588.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature12480>
17. Coyte KZ, Schluter J, i Foster KR. The ecology of the microbiome: Networks, competition, and stability. *Science.* 2015;350(6261):663-666.
doi: <https://doi.org/10.1126/science.aad2602>
18. Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, von Ossowski I, Reunanen J, Partanen P, i sur. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human – mucus binding protein. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2009;106(40):17193-17198.
doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0908876106>
19. McKenna P, Hoffmann C, Minkah N, Aye PP, Lackner A, Liu Z, i sur. The Macaque Gut Microbiome in Health, Lentiviral Infection, and Chronic Enterocolitis. *PLoS Pathog.* 2008;4(2):e20.
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0040020>

20. Belzer C, i de Vos WM. Microbes inside – from diversity to function: the case of *Akkermansia*. ISME J. 2012;6(8):1449-1458.

doi: <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.6>

21.

URL:

https://www.google.com/search?q=bacteroides+fragilis&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=weK73MClq_UQbM%252Ctny-zoB1a0nijM%252C_&vet=1&usg=AI4_hkSYfaugGzebNDzRSxjc0BRwBObPaA&sa=X&ved=2ahUKEwjzobSZuljzAhVFzKQKHRG9CeYQ_h16BAgfEAE&cshid=1631965260945914#imgsrc=0JgHTWJrqhYeqM. (18.9.2021.)

22. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, i sur. A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature. 2009;457(7228):480-484.

doi: <https://doi.org/10.1038/nature07540>

23. Jeffery IB, Quigley EMM, Öhman L, Simren M, i O'Toole PW. The microbiota link to irritable bowel syndrome. Gut Microbes. 2012;3(6):572-576.

doi: <https://doi.org/10.4161/gmic.21772>

24. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, i sur. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. Science. 2011;334(6052):105-108.

doi: <https://doi.org/10.1126/science.1208344>

25. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012;486(7402):207-214.

doi: <https://doi.org/10.1038/nature11234>

26. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, i sur. Microbial Prevalence, Diversity and Abundance in Amniotic Fluid During Preterm Labor: A Molecular and Culture-Based Investigation. PLoS ONE. 2008;3(8):e3056.

doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003056>

27. Faa G, Gerosa C, Fanni D, Nemolato S, van Eyken P, i Fanos V. Factors influencing the development of a personal tailored microbiota in the neonate, with particular emphasis on antibiotic therapy. J Matern Fetal Neonatal Med. 2013;26(Suppl2):35-43.

doi: <https://doi.org/10.3109/14767058.2013.829700>

28. Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Chari RS, i sur. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ*. 2013;185(5):385-394.
doi: <https://dx.doi.org/10.1503%2Fcmaj.121189>
29. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, i sur. Delivery mode shapes the acquisition and structure of initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2010;107(26):11971-11975.
doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1002601107>
30. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm JC, Harris K, Quince C, Jernberg C, i sur. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut*. 2014;63(4):559-566.
doi: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303249>
31. Cardwell CR, Stene LC, Joner G, Cinek O, Svensson J, Goldacre MJ, i sur. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia*. 2008;51(5):726-735.
doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-008-0941-z>
32. Thavagnanam S, Fleming J, Bromley A, Shields MD, i Cardwell CR. A meta-analysis of the association between Caesarean section and childhood asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008;38(4):629-633.
doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02780.x>
33. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, i sur. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe*. 2015;17(5):690-703.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.04.004>
34. Ege MJ, Mayer M, Normand AC, Genuneit J, Cookson WO, Braun-Fahrlander C, i sur. Exposure to Environmental Microorganisms and Childhood Asthma. *N Engl J Med*. 2011;364(8):701-709.
doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1007302>
35. Hwang J, Im CR, i Im SH. Immune Disorders and Its Correlation with Gut Microbiome. *Immune Netw*. 2012;12(4):129-138.
doi: <https://doi.org/10.4110/in.2012.12.4.129>

36. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, i Jenmalm MC. Low gut microbiota in early infancy precedes asthma at school age. *Clin Exp Allergy*. 2013;44(6):842-850.
doi: <https://doi.org/10.1111/cea.12253>
37. Abrahamsson TR, Jakobsson HE, Andersson AF, Björkstén B, Engstrand L, i Jenmalm MC. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;129(2):434-440.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.10.025>
38. Bisgaard H, Li N, Bonnelykke K, Stokholm J, Smith B, Krogfelt KA, i sur. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(3):646-652.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.04.060>
39. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, i Brown PO. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biol*. 2007;5(7):e177.
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050177>
40. Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, i Mills DA. Human milk glycomiome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci U.S.A*. 2010;108(Suppl1):4653-4658.
doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1000083107>
41. Charbonneau MR, O'Donnell D, Blanton LV, Lebrilla C, Mills DA, Gordon JI, i sur. Sialylated Milk Oligosaccharides Promote Microbiota-Dependent Growth in Models of Infant Undernutrition. *Cell*. 2016;164(5):859-871.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.024>
42. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, i sur. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics*. 2006;118(2):511-521.
doi: <https://doi.org/10.1542/peds.2005-2824>
43. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, i sur. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486(7402):222-227.
doi: <https://dx.doi.org/10.1038%2Fnature11053>

44. Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, i sur. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2011;108(Suppl1):4578-4585.
doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1000081107>
45. URL: <https://www.nutriciaresearch.com/the-infants-gut-a-centre-of-immunity/>. (18.9.2021.)
46. Hopkins MJ, Sharp R, i Macfarlane GT. Variation in human intestinal microbiota with age. *Dig Liver Dis.* 2002;34(Suppl2):12-18.
doi: [https://doi.org/10.1016/s1590-8658\(02\)80157-8](https://doi.org/10.1016/s1590-8658(02)80157-8)
47. Woodmansey EJ, McMurdo MET, Macfarlane GT, i Macfarlane S. Comparison of Compositions and Metabolic Activities of Fecal Microbiotas in Young Adults and in Antibiotic-Treated and Non-Antibiotic-Treated Elderly Subjects. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(10):6113-6122.
doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.70.10.6113-6122.2004>
48. Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, i McMurdo MET. Characterization of Bacterial Communities in Feces from Healthy Elderly Volunteers and Hospitalized Elderly Patients by Using Real-Time PCR and Effects of Antibiotic Treatment on the Fecal Microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(6):3575-3581.
doi: <https://doi.org/10.1128/aem.70.6.3575-3581.2004>
49. Mueller S, Saunier K, Hanisch K, Norin E, Alm L, Midvedt T, i sur. Differences in Fecal Microbiota in Different European Study Populations in Relation to Age, Gender, and Country: a Cross-Sectional Study. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72(2):1027-1033.
doi: <https://doi.org/10.1128/aem.72.2.1027-1033.2006>
50. Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, i sur. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2011;108(Suppl1):4586-4591.
doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1000097107>
51. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães VD, Sokol H, Doré J, i sur. The *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol.* 2009;9:123.
doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-123>

52. Biagi E, Nylund L, Candela M, Ostan R, Bucci L, Pini E, i sur. Through Ageing and Beyond: Gut Microbiota and Inflammatory Status in Seniors and Centenarians. PLoS ONE. 2010;5(5):e10667.
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010667>
53. Claesson MJ, Jeffery IB, Conde S, Power SE, O'Connor EM, Cusack S, i sur. Gut microbiota correlates with diet and health in the elderly. Nature. 2012;488(7410):178-184.
doi: <https://doi.org/10.1038/nature11319>
54. Arbolea S, Watkins C, Stanton C, i Ross RP. Gut *Bifidobacteria* Populations in Human Health and Aging. Front Microbiol. 2016;7:1204.
doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01204>
55. Thursby E, i Juge N. Introduction to the human gut microbiota. Biochem J. 2017;474(11):1823-1836.
doi: <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>
56. Li D, Wang P, Wang P, Hu X, i Chen F. The gut microbiota: A treasure for human health. Biotechnol Adv. 2016;34(7):1210-1224.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.003>
57. Cresci GA, i Bawden E. Gut Microbiome: What We Do and Dont Know. Nutr Clin Pract. 2015;30(6):734-736.
doi: <https://doi.org/10.1177/0884533615609899>
58. Adak A, i Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. Cell Mol Life Sci. 2019;76(3):473-493.
doi: <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2943-4>
59. Barko PC, McMichael MA, Swansson KS, i Williams DA. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. J Vet Intern Med. 2018;32(1):9-25.
doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.14875>
60. Wen L, i Duffy A. Factors Influencing the Gut Microbiota, Inflammation and Type 2 Diabetes. J Nutr. 2017;147(7):1468-1475).
doi: <https://doi.org/10.3945/jn.116.240754>
61. Dong TS, i Gupta A. Influence of Early Life, Diet and the Environment on the Microbiome. Clin Gastroenterol Hepatol. 2019;17(2):231-242.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.08.067>

62. Chong CYL, Bloomfield FH, i O'Sullivan JM. Factors Affecting Gastrointestinal Microbiome Development in Neonates. *Nutrients*. 2018;10(3):274.
doi: <https://doi.org/10.3390/nu10030274>
63. Liu Y, Qin S, Song Y, Feng Y, Lv N, Xue Y, i sur. The Perturbation of Infant Gut Microbiota Caused by Cesarean Delivery Is Partially Restored by Exclusive Breastfeeding. *Front Microbiol*. 2019;10:598.
doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00598>
64. Bhalodi AA, van Engelen TSR, Virk HS, i Wiersinga WJ. Impact of antimicrobial therapy on the gut microbiome. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(Suppl1):6-15.
doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dky530>
65. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, Zeller G, Telzerow A, Anderson EE, i sur. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature*. 2018;555(7698):623-628.
doi: <https://dx.doi.org/10.1038%2Fnature25979>
66. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, i Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015;21(29):8787-8803.
doi: <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i29.8787>
67. Hasan N, i Yang H. Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. *PeerJ*. 2019;7:e7502.
doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.7502>
68. Sandhu KV, Sherwin E, Schellekens H, Stanton C, Dinan TG, i Cryan JF. Feeding the gut microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry. *Transl Res*. 2016;179:223-244.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2016.10.002>
69. Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, Lopetuso LR, Scaldaferri F, Pulcini G, i sur. Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition. *Nutrients*. 2019;11(10):2393.
doi: <https://doi.org/10.3390/nu11102393>
70. Bajinka O, Tan Y, Abdelhalim KA, Özdemir G, i Qiu X. Extrinsic factors influencing gut microbes, the immediate consequences and restoring eubiosis. *AMB Express*. 2020;10:130.
doi: <https://doi.org/10.1186/s13568-020-01066-8>

71. Capurso G, i Lahner E. The interaction between smoking, alcohol and the gut microbiome. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31(5):579-588.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2017.10.006>
72. Gui X, Yang Z, i Li MD. Effect of Cigarette Smoke on the Gut Microbiota: State of Knowledge. *Front Physiol*. 2021;12:673341.
doi: <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.673341>
73. Song M, i Chan AT. Environmental Factors, Gut Microbiota, and Colorectal Cancer Prevention. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(2):275-289.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.07.012>
74. Karl JP, Hatch AM, Arcidiacono SM, Pearce SC, Pantoja-Feliciano IG, Doherty LA, i sur. Effects of Psychological, Environmental and Physical Stressors on the Gut Microbiota. *Front Microbiol*. 2018;9:2013.
doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02013>
75. Redondo-Useros N, Nova E, González-Zancada N, Díaz LE, Gómez-Martínez S, i Marcos A. Microbiota and Lifestyle: A Special Focus on Diet. *Nutrients*. 2020;12(6):1776.
doi: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fnu12061776>
76. Madison A, i Kiecolt-Glaser JK. Stress, depression, diet, and the gut microbiota: human-bacteria interactions at the core of psychoneuroimmunology and nutrition. *Curr Opin Behav Sci*. 2019; 28:105-110.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2019.01.011>
77. Clarke SB, Murphy EF, O'Sullivan, Lucey AJ, Humphreys M, Hogan A, i sur. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut*. 2014;63(12):1913-1920.
doi: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-306541>
78. Li X, Kan EM, Lu J, Cao Y, Wong RK, Keshavarzian A, i sur. Combat-training increases intestinal permeability, immune activation and gastrointestinal symptoms in soldiers. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;37(8):799-809.
doi: <https://doi.org/10.1111/apt.12269>
79. Phua LC, Wilder-Smith CH, Tan YM, Gopalakrishnan T, Wong RK, Li X, i sur. Gastrointestinal Symptoms and Altered Intestinal Permeability Induced by Combat Training Are Associated with Distinct Metabotypic Changes. *J Proteome Res*. 2015;14(11):4734-4742.
doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.5b00603>

80. Karl JP, Margolis LM, Madslien EH, Murphy NE, Castellani JW, Gundersen Y, i sur. Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2017a);312(6):559-571.
doi: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00066.2017>
81. Karl JP, Margolis LM, Murphy NE, Carrigan CT, Castellani JW, Madslien EH, i sur. Military training elicits marked increase in plasma metabolomic signatures of energy metabolism, lipolysis, fatty acid oxidation, and ketogenesis. *Physio Rep*. 2017b);5(17):e13407.
doi: <https://doi.org/10.14814/phy2.13407>
82. Russel A, i Douster PA. Human performance optimization and precision performance: the future of special operations human performance efforts. *J Spec Oper Med*. 2017;17(1):80-90
PMID: 28285485.
83. Arcidiacono S, Soares JW, Karl JP, Chrisey L, Dancy BCR, Goodson M, i sur. The current state and future direction of DoD gut microbiome research: a summary of the first DoD gut microbiome informational meeting. *Std Genomic Sci*. 2018;13:5.
doi: <https://doi.org/10.1186/s40793-018-0308-0>
84. Glaven S, Racicot K, Leary DH, Karl JP, Arcidiacono S, Dancy BCR, i sur. The current and future state of department of defense (DoD) microbiome research: a summary of inaugural DoD tri-service microbiome consortium informational meeting. *mSystems*;2018(3)4:e00086-18.
doi: <https://doi.org/10.1128/mSystems.00086-18>
85. Biswas D, i Rahaman SO, urednici. *Gut Microbiome and Its Impact on Health and Disease*. Cham, Švicarska: Springer Nature Switzerland AG; 2020.
86. Ding RX, Goh WR, Wu RN, Yue XQ, Luo X, Khine WWT, i sur. Revisit gut microbiota and its impact on human health and disease. *J Food Drug Anal*. 2019;27(3):623-631.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.012>
87. Chen Y, Zhou J, i Wang L. *Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease*. *Fron Cell Infect Microbiol*. 2021;11:625913.
doi: <https://dx.doi.org/10.3389%2Ffcimb.2021.625913>

88. Satyanarayana TS, Johri BN, i Das SK. Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications, Volume 1. Microbial Diversity in Normal & Extreme Environments. Singapur, Singapur: Springer Nature Singapore Pte Ltd.; 2019.
89. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, i Finlay BB. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol Rev.* 2010;90(3):859-904.
doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>
90. Zhang YJ, Li S, Gan RY, Zhou T, Xu DP, i Li HB. Impacts of Gut Bacteria on Human Health and Diseases. *Int J Mol Sci.* 2015;16(4):7493-7519.
doi: <https://doi.org/10.3390/ijms16047493>
91. Wang B, Yao M, Lv L, i Ling Z, Li L. The Human Microbiota in Health and Disease. *Engineering.* 2017;3(1):71-82.
doi: <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.01.008>
92. URL: <https://www.webmd.com/diabetes/insulin-resistance-syndrome>. (14.9.2021.)
93. Zhang X, Shen D, Fang Z, Jie Z, Qiu X, Zhang C, i sur. Human Gut Microbiota Changes the Progression of Glucose Intolerance. *PLoS One.* 2013;8(8):e7111108.
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071108>
94. Wang PX, Deng XR, Zhang CH, i Yuan HJ. Gut microbiota and metabolic syndrome. *Chin Med J.* 2020;133(7):808-816.
doi: <https://dx.doi.org/10.1097%2FCM9.0000000000000696>
95. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, Hermes GDA, Hirschfield GM, Hold G, i sur. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut.* 2015;65(2):330-339.
doi: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309990>
96. Wei X, Yan X, Zou D, Yang Z, Wang X, Liu W, i sur. Abnormal fecal microbiota community and functions in patients with hepatitis B liver cirrhosis as revealed by a metagenomic approach. *BMC Gastroenterol.* 2013;13:175.
doi: <https://doi.org/10.1186/1471-230x-13-175>
97. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, i sur. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2008;105(43):16731-16736.
doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0804812105>

98. URL: <https://www.taconic.com/taconic-insights/microbiome-and-germ-free/what-are-germ-free-mice.html>. (17.9.2021.)
99. Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E, i sur. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. Clin Infect Dis. 2002;35(Suppl1):6-16.
doi: <https://doi.org/10.1086/341914>
100. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen ML, i sur. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. J Child Neurol. 2000;15(7):429-435.
doi: <https://doi.org/10.1177/088307380001500701>
101. Schmidt TM, urednik. Encyclopedia of Microbiology 4th edition. Amsterdam, Nizozemska: Elsevier; 2019.
102. Markowiak P, i Śliżewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. Nutrients. 2017;9(9):1021.
doi: <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
103. Pandey KR, Naik SR, i Vakil BV. Probiotics, prebiotics and synbiotics – a review. J Food Sci Technol. 2015;52(12):7577-7587.
doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1921-1>
104. URL: <https://my.clevelandclinic.org/health/articles/14598-probiotics>. (18.9.2021.)
105. URL: <https://www.dreamstime.com/vector-probiotic-foods-best-sources-probiotics-beneficial-bacteria-improve-health-design-label-brochure-menu-poster-image182613111>. (18.9.2021.)
106. de Vresse M, i Schrezenmeir J. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics. Adv Biochem Eng Biotechnol. 2008;111:1-66, doi: https://doi.org/10.1007/10_2008_097.
107. URL: <https://medium.com/@probioticuniversity/the-friendly-prebiotics-types-and-food-sources-4bb3c4f6356e>. (18.9.2021.)