

# Veza između debljine i bakterija

---

Šerić, Martina

Undergraduate thesis / Završni rad

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:182644>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET**  
**BIOLOŠKI ODSJEK**

**VEZA IZMEĐU DEBLJINE I BAKTERIJA**  
**OBESITY RELATED TO BACTERIA**

**SEMINARSKI RAD**

Martina Šerić

Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Ivančić Baće

Zagreb, 2012.

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. CRIJEVNE BAKTERIJE U LJUDI .....	2
3. CRIJEVNE BAKTERIJE POVEZANE S PRETILOŠ Ő U .....	6
4. INTERAKCIJA URO Ć ENOG IMUNOLOŠ KOG SUSTAVA I CRIJEVNIH BAKTERIJA .....	10
5. ZAKLJU CI .....	14
6. LITERATURA .....	15
7. SAŹETAK .....	16
8. SUMMARY .....	17

## 1. UVOD

Metabolički sindrom je niz međusobno povezanih poremećaja koji mogu dovesti do razvoja dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti ([www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms](http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms)). Procjenjuje se da u svijetu 20-25% ljudi ima metabolički sindrom. U tih ljudi rizik od srčanog udara je 3 puta veći, a rizik od razvoja dijabetesa tipa 2 je 5 puta veći nego u ljudi koji nemaju metabolički sindrom (International Diabetes Federation, [www.scribd.com/doc/55009530/IDF-Meta-Def-Final](http://www.scribd.com/doc/55009530/IDF-Meta-Def-Final)). Najčešći faktori rizika za razvoj metaboličkog sindroma koji se zajedno javljaju su: visceralna distribucija masnog tkiva (masno tkivo koje okružuje unutarnje organe), visoka razina triglicerida, niska razina HDL kolesterola, hipertenzija i povišena razina glukoze u krvi. Sve češća pojava metaboličkog sindroma usko je povezana s pretilošću i smanjenom fizičkom aktivnošću, te inzulinskom rezistencijom ([www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms](http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms)).

U zadnje vrijeme smatra se da crijevne bakterije imaju ulogu u razvoju pretilosti i ostalih aspekata metaboličkog sindroma koji se posljedično javljaju. U ranijim istraživanjima dokazano je da pretili ljudi i pretili miševi u svojem probavnom sustavu sadrže drugačije bakterije nego mršavi pojedinci. Iz toga je zaključeno da crijevne bakterije u pretilih pojedinaca mogu iz hrane ekstrahirati veću količinu kalorija koje onda doprinose povećanju tjelesne mase. Drugi način na koji crijevne bakterije mogu pridonijeti razvoju metaboličkog sindroma je preko interakcije s urođenim imunološkim sustavom. Zbog svoje velike površine i izloženosti različitim mikroorganizmima koje unosimo zajedno s hranom probavni sustav ima važnu ulogu u imunosti (Sandoval i sur. 2010).

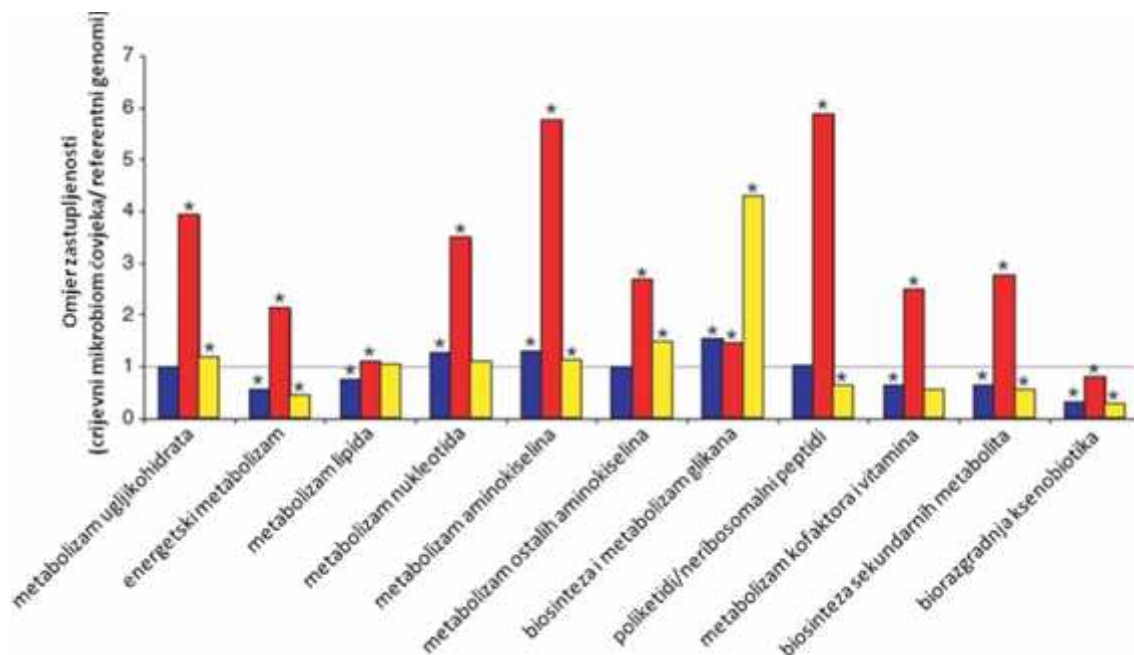
## 2. CRIJEVNE BAKTERIJE U LJUDI

U crijevima odraslog ovjeka nalazi se  $10^{13}$  –  $10^{14}$  mikroorganizama, od kojih je veina smještena u debelom crijevu. Veliina te populacije veina je od svih ostalih zajednica mikroorganizama povezanih sa površinom ljudskog tijela, te je njen ukupan broj stanica oko 10 puta veina od broja somatskih i germinativnih stanica ljudskog tijela. Crijevne bakterije konzumiraju energiju, sudjeluju u njenoj pohrani i distribuciji, te razgrađuju različite polisaharide koje mi sami ne bismo mogli probaviti.

U crijevima ovjeka prisutne su bakterijske vrste koje spadaju u 8 različitih koljena, od kojih je 5 slabo zastupljeno. Koljena koja dominiraju su Bacteroidetes i Firmicutes, a esto su prisutne i Proteobacteria. Usporedbom sekvenci 16S rRNA procijenjeno je da broj različitih vrsta crijevnih bakterija iznosi oko 800, a broj različitih sojeva >7000. Može se zaključiti da je raznolikost bakterija gastrointestinalnog trakta vrlo velika na nivou sojeva i podvrsta, iako je zastupljen samo malen broj koljena. Takva raznolikost rezultat je koevolucije i odražava snažnu selekciju domaćina prema specifičnim bakterijama koje osobine služe u korist domaćinu.

Ukupni genom crijevnih mikroorganizama (mikrobiom) sadrži 100 puta više gena nego ljudski genom. Njihov genom pruža nam različite metaboličke puteve koje mi sami nismo morali razviti u evoluciji, kao što je razgradnja hranjivih tvari koje bi za nas inače bile neprobavljive (Bäckhed i sur. 2005).

Da bi razjasnili kakve fiziološke karakteristike crijevni mikrobiom ovjeka omogućuje svom domaćinu, Steven R. Gill i suradnici analizirali su gene mikroorganizama prisutne u fecesu dvaju odraslih, zdravih ljudi. Metabolički potencijal mikrobioma istražili su koristeći KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, verzija 37) i COG (Clusters of Orthologous Groups) analize. KEGG analiza svrstava enzime u poznate metaboličke puteve, a COG analiza koristi evolucijsku povezanost za grupiranje funkcionalno povezanih gena. Da bi odredili koji metabolički putevi su jaki, a koji slabije zastupljeni u crijevnom mikrobiomu, znanstvenici su usporedili gene fekalnih bakterija obaju subjekata istraživanja sa genima svih do sada sekvenciranih mikroorganizama (Slika 1.).



**Slika 1.** KEGG analiza pokazuje metaboli ke funkcije koje su više ili manje zastupljene u mikrobiomu ljudskog debelog crijeva u odnosu na referentne genome. Geni fekalnih bakterija obaju subjekata uspore ivani su sa svim sekvenciranim bakterijskim genomima (plavo), genomom ovjeka (crveno) i svim sekvenciranim arhealnim genomima (žuto). Zvezdica ozna va zna ajno ve u ili manju zastupljenost. Kategorija "metabolizam ostalih aminokiselina" uklju uje aminokiseline koje se ne ugra uju u proteine, kao što su - alanin, taurin i glutation (preuzeto i prilago eno na temelju Gill i sur. 2006).

Polisaharidi biljnog porijekla koje redovito konzumiramo bogati su ksilanom, pektinom i arabinozom. Ljudski genom ne sadrži ve inu enzima potrebnih za razgradnju ovih ugljikohidrata, ali zato nam njihovu razgradnju omogu uju bakterije debelog crijeva. Crijevni mikrobiom bogat je genima koji sudjeluju u metabolizmu škroba i saharoze, kao i u metabolizmu glukoze, galaktoze, fruktoze, arabinoze, manoze i ksiloze. U mikrobiomu je prisutna najmanje 81 glikozid hidrolaza, od kojih ve ina nije prisutna u genomu ovjeka.

Za fermentaciju dijetalnih vlakana potrebna je suradnja razli itih grupa mikroorganizama. Osim bakterija, u ljudskom gastrointestinalnom traktu prisutne su i arheje. Prilikom bakterijske razgradnje polisaharida na kratkolan ane masne kiseline (uglavnom acetat, propionat i butirat) stvaraju se ugljikov dioksid i vodik. Doma in apsorbira ve inu nastalih masnih kiselina. Akumulacija vodika nastalog fermentacijom smanjuje efikasnost daljnje razgradnje polisaharida. Metanogene arheje (najzna ajnija je *Methanobrevibacter smithii*) koriste ugljikov dioksid i vodik te proizvode metan, smanjuju i tako parcijalni tlak

plinova i povećavaju i brzinu bakterijske fermentacije. Alternativni putevi za uklanjanje vodika iz crijeva su redukcija sulfata i homoacetogeneza. COG analiza pokazala je visoku zastupljenost gena uključenih u proizvodnju acetata, butirata, laktata i sukcinata, te gena važnih u proizvodnji metana (u odnosu na ostale poznate mikroorganizme).

Crijevni mikrobiom obogaćen je i enzimima važnim za sintezu esencijalnih aminokiselina i vitamina. Značajno je povišena zastupljenost enzima u MEP (2-metil-D-eritritol 4-fosfat) putu, koji služi za biosintezu deoksiksiluloza 5-fosfata (DXP) i izopentenil pirofosfata (IPP). DXP je prekursor u biosintezi vitamina esencijalnih za zdravlje čovjeka (tu spadaju vitamini B<sub>1</sub> – tiamin, i B<sub>6</sub> – piridoksal). IPP je prekursor mnogobrojnih spojeva, a neki od njih su arhealni membranski lipidi, karotenoidi i kolesterol. Također su prisutni i geni važni za detoksifikaciju ksenobiotika (Gill i sur. 2006).

Sastav crijevnih bakterijskih vrsta razlikuje se od pojedinca do pojedinca, no analizom uzoraka fecesa velikog broja ljudi primijećeni su obrasci u tim varijacijama. Prema dominantnim rodovima bakterija izdvojena su 3 enterotipa: *Bacteroides*, *Prevotella* i *Ruminococcus*. Pretpostavlja se da bi 3 enterotipa mogla biti povezana s krvnim grupama i kemijskim putevima kojima se uklanja vodik nastao prilikom fermentacije polisaharida. Još jedna pretpostavka je da je enterotip određen prvim mikrobima s kojima imunološki sustav dolazi u dodir prilikom razvoja (Jones 2011).

Na sastav crijevnih mikrobnih zajednica utječu faktori kao što su genotip domaćina, dob i prehrana. Wu i suradnici istražili su utjecaj dugoročne prehrane na sastav mikrobioma. Rezultati njihovog istraživanja pokazuju da visoka zastupljenost rodova *Bacteroides* i *Prevotella* razlikuje 2 enterotipa, pri čemu se slabije izražen *Ruminococcus* enterotip svrstava pod *Bacteroides* enterotip. Dugoročna prehrana bogata animalnim proteinima, različitim aminokiselinama i zasićenim mastima povezana je s *Bacteroides* enterotipom, dok je prehrana bogata ugljikohidratima i jednostavnim šećerima povezana s *Prevotella* enterotipom (Wu i sur. 2011).

Usporedbom miševa uzgojenih u sterilnim uvjetima i konvencionalno uzgojenih miševa primijećeni su utjecaji urođenih bakterija na energetski balans domaćina. Odrasli konvencionalno uzgojeni miševi imaju 40% više ukupne masnoće u tijelu nego miševi uzgojeni u sterilnim uvjetima koji su dobivali hranu bogatu polisaharidima, iako su konvencionalno uzgojeni miševi konzumirali manje hrane dnevno. To se objašnjava

injenicom da crijevne bakterije omogućuju dobivanje energije iz inane i neprobavljivih polisaharida u prehrani. Prijenos sadržaja debelog crijeva iz konvencionalno uzgojenih miševa u sterilne miševe uzrokovao je porast udjela masnoće u tijelu sterilnih miševa na istu razinu kao u konvencionalno uzgojenih miševa. Taj porast nastaje kao posljedica hipertrofije adipocita. Prisutnost bakterija uzrokuje povećanje unosa glukoze u crijevu domaćina te se znatno povećava razina glukoze i inzulina u serumu, što preko transkripcijskih faktora uzrokuje lipogenezu u jetri. Kratkolanane masne kiseline nastale bakterijskom fermentacijom također potiču u lipogenezu. Trigliceridi, koji iz jetre odlaze u cirkulaciju, pohranjuju se u adipocite pomoću enzima lipoprotein lipaze. Epitelne stanice crijeva luče inhibitor lipoprotein lipaze – Fiaf (fasting-induced adipose factor), a bakterije inhibiraju njegovu ekspresiju. Fiaf je važan regulator aktivnosti lipoprotein lipaze i glavni modulator povećanja pohrane masnoće uzrokovanog bakterijama.

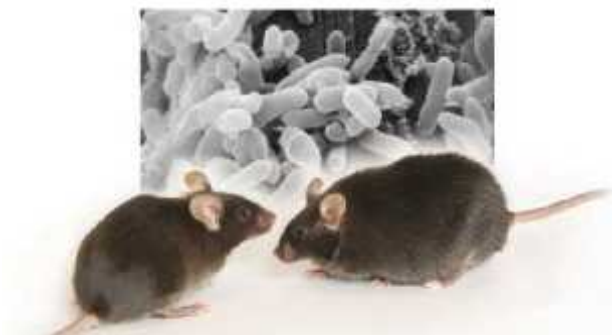
Genotip domaćina utječe na individualne varijacije u sastavu crijevnih bakterija, te se pretpostavlja da njihova efikasnost u ekstrahiranju energije iz hrane utječe na predispoziciju za razvoj pretilosti (Bäckhed i sur. 2005).



### 3. CRIJEVNE BAKTERIJE POVEZANE S PRETILOŠ U

Turnbaugh i suradnici proveli su istraživanja u kojima su usporeivali crijevne bakterije pretilih i mršavih miševa, kao i pretilih i mršavih ljudi. Njihova pretpostavka bila je da su crijevne bakterije pretilih pojedinaca efikasnije u iskorištavanju energije iz hrane nego crijevne bakterije mršavih pojedinaca.

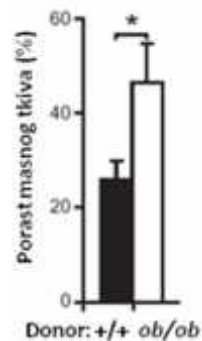
Znanstvenici su usporeivali sekvence 16S rRNA crijevnih bakterija odraslih C57BL/6J miševa homozigota mutiranih u genu za leptin (*ob/ob*, mutacija uzrokuje pretilost) sa crijevnim bakterijama mršavih miševa koji su uzgajani u istim uvjetima (*ob/+* i *+/+*). U ovih miševa 90% crijevnih bakterija pripadalo je koljenima Bacteroidetes i Firmicutes. Međutim, relativna zastupljenost koljena Bacteroidetes u *ob/ob* miševa bila je 50% niža nego zastupljenost koljena Firmicutes (Slika 2.). Također je ustanovljeno da je u crijevima *ob/ob* miševa prisutno više arhealnih gena nego u *ob/+* i *+/+* miševa. Metanogene arheje povećavaju efikasnost bakterijske fermentacije, što može dovesti do povećanja pretilosti. Mjerenjem u kalorimetrijskoj bombi pokazano je da u fecesu *ob/ob* miševa ostaje znajno manje energije nego u fecesu mršavih miševa.



**Slika 2.** Pretili i mršavi miševi imaju različitu zastupljenost bakterija koljena Bacteroidetes (u pozadini) u svojim crijevima (preuzeto iz Pennisi 2009).

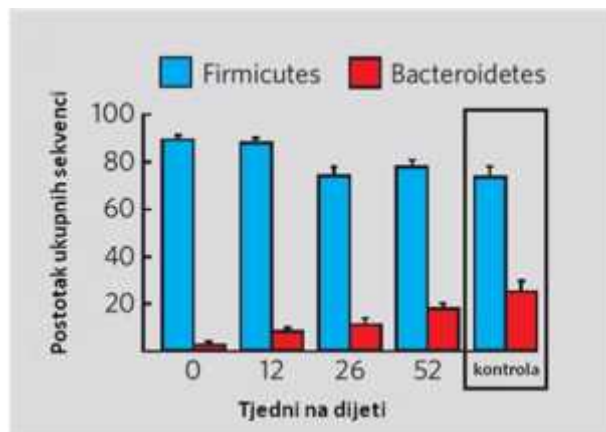
Kako bi potvrdili hipotezu da su crijevne bakterije pretilih miševa efikasnije u iskorištavanju energije od crijevnih bakterija mršavih miševa, znanstvenici su proveli transplantaciju crijevnih bakterija. U odrasle sterilne C57BL/6J miševe prenijeli su bakterije iz cekuma pretilih (*ob/ob*) ili mršavih (*+/+*) donora. Nakon 2 tjedna analizom 16S rRNA gena pokazano je da u recipijentima nije došlo do značajnih promjena u sastavu koloniziranih

bakterija, tj. da je njihov sastav odgovarao sastavu bakterija koje su transplantirane u recipijenta. Na početku eksperimenta nije bilo značajnih razlika u masi i postotku masnog tkiva recipijenta *ob/ob* ili *+/+* bakterija, i tijekom 2 tjedna miševi su konzumirali jednaku količinu hrane. Na kraju eksperimenta miševi kolonizirani bakterijama iz *ob/ob* miševa pokazali su značajan porast u postotku masnog tkiva u odnosu na miševe kolonizirane bakterijama iz *+/+* miševa (Slika 3.) (Turnbaugh i sur. 2006).



**Slika 3.** Zvezdicom je označena značajna razlika u porastu postotka masnog tkiva sterilnih odraslih C57BL/6J miševa koloniziranih bakterijama iz mršavih (*+/+*) i pretilih (*ob/ob*) donora (preuzeto i prilagođeno na temelju Turnbaugh i sur. 2006).

Ley i suradnici proveli su istraživanje u kojem su razmatrali odnos između mikroorganizama i pretilosti u ljudi. U crijevima ljudi, kao i u crijevima miševa, dominiraju dvije koljena bakterija: Bacteroidetes i Firmicutes. U eksperimentu je sudjelovalo 12 pretilih ljudi kojima je propisana niskokalorična dijeta s ograničenom količinom masti ili ugljikohidrata. Sastav njihovih crijevnih bakterija proučen je sekvenciranjem 16S rRNA iz uzoraka stolice tijekom jedne godine. Na početku eksperimenta, u crijevima pretilih ljudi bila je prisutna manja količina Bacteroideta, i veća količina Firmicuta nego u kontrolnoj grupi mršavih ljudi. S vremenom se povećavala relativna zastupljenost Bacteroideta, a smanjivala zastupljenost Firmicuta, bez obzira na tip propisane dijeta. Povećana prisutnost Bacteroideta korelirala je sa postotkom smanjenja tjelesne mase (Slika 4.) (Ley i sur. 2006).



**Slika 4.** Relativna zastupljenost koljena Bacteroidetes i Firmicutes u pretilih ljudi tijekom jedne godine. Kontrola su uzorci stolice mršavih ljudi (preuzeto i prilagođeno na temelju Ley i sur. 2006).

Istraživanjem provedenim na parovima jednojajanih i dvojajanih blizanaca (od kojih su neki bili pretili, a neki mršavi) te njihovim majkama, Turnbaugh i suradnici pokazali su da pojedinci koji su u rodu imaju slični sastav bakterijskih zajednica u crijevima (imaju puno veći broj zajedničkih vrsta) nego pojedinci koji nisu u rodu. Iako postoje značajne varijacije između pojedinaца na nivou zastupljenih bakterijskih vrsta, razlike su puno manje kad se uspoređuje zastupljenost različitih funkcionalnih kategorija bakterijskih gena i različitih metaboličkih puteva. Velika funkcionalna raznolikost mikrobioma značajno je povezana sa relativnom zastupljenošću Bacteroideta, dok mikrobiomi bogati Firmicutama i Actinobacteriama imaju manji stupanj funkcionalne raznolikosti. Također, kod pretilih pojedinaца primijećena je smanjena raznolikost vrsta crijevnih bakterija.

Velik dio funkcionalnih grupa enzima bio je prisutan kod svih ispitivanih ljudi. Tu spadaju funkcionalne kategorije uključene u transkripciju i translaciju, te putevi uključeni u metabolizam ugljikohidrata i aminokiselina. U varijabilno zastupljene kategorije pripadaju putevi uključeni u membranski transport i sekreciju te pokretljivost stanica (samo dio Firmicuta stvara flagele). Da bi se odredili metabolički putevi povezani s pretilošću, uspoređivane su samo varijabilne funkcionalne grupe crijevnih bakterija mršavih i pretilih parova blizanaca. Pronađena su 383 gena kojima se zastupljenost značajno razlikuje između mikrobioma pretilih i mršavih pojedinaца: 273 gena pokazala su veću, a 110 manju zastupljenost u mikrobiomu pretilih ljudi. 75% najzastupljenijih gena pripadaju bakterijama koljena Actinobacteria, a 25% bakterijama koljena Firmicutes. Kod mršavih ljudi, 42% gena

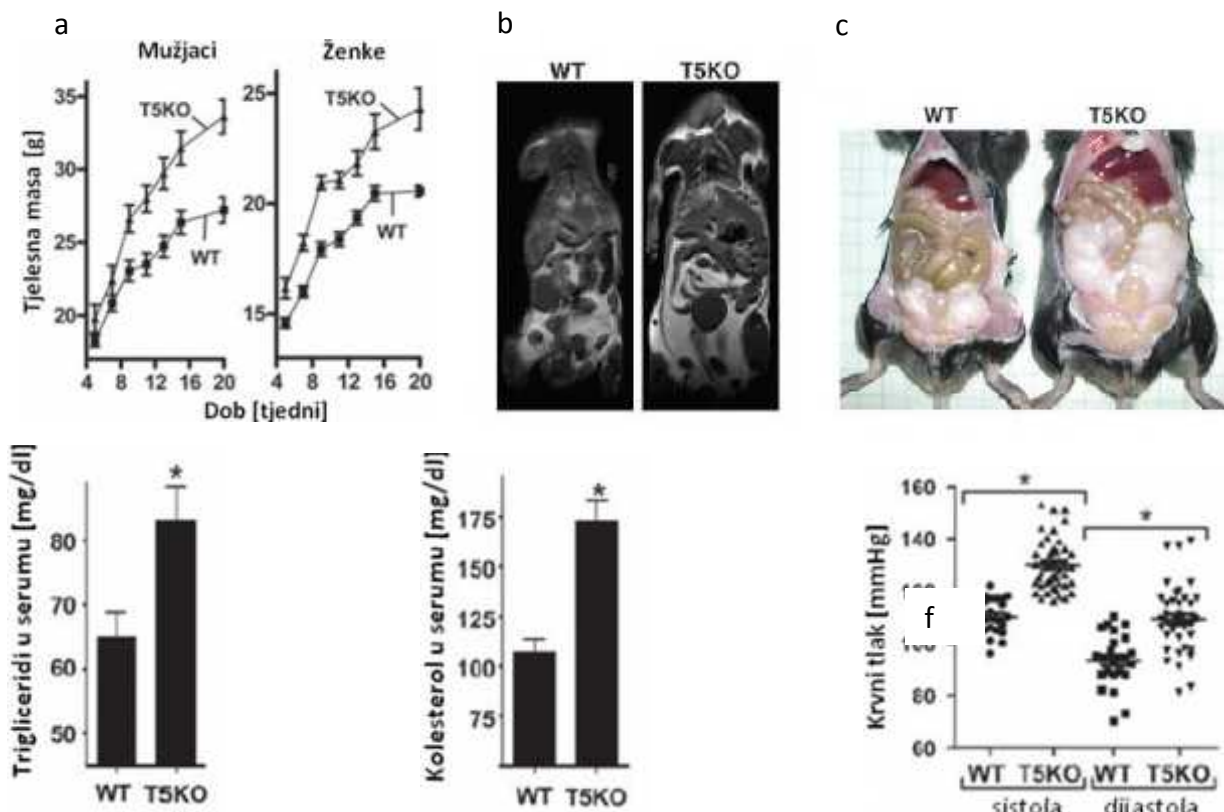
koji su pokazali ve u zastupljenost pripadaju bakterijama koljena Bacteroidetes. Ve ina tih gena povezana je s metabolizmom ugljikohidrata, aminokiselina i masnih kiselina.

Na temelju ovih istraživanja može se zaključiti da je pretilost povezana s promjenama u sastavu bakterijskih vrsta na razini koljena, smanjenom raznolikoš u bakterijskih vrsta te promijenjenom zastupljenoš u bakterijskih gena i metaboli kih puteva (Turnbaugh i sur. 2009). Mehanizmi koji povezuju promjene na razini zastupljenosti pojedinih bakterijskih koljena sa pretiloš u ljudi i miševa još nisu razjašnjeni. Promjene u stupnju efikasnosti ekstrakcije energije iz hrane, nastale kao posljedica promjene u sastavu bakterija, ne moraju biti velike da bi pridonosile pretilosti. Male promjene u energetskej ravnoteži mogu uzrokovati velike promjene u tjelesnoj masi kroz dulji vremenski period (Turnbaugh i sur. 2006).

#### 4. INTERAKCIJA URO ENOG IMUNOLOŠKOG SUSTAVA I CRIJEVNIH BAKTERIJA

Uro eni imunološki sustav je važan u obrani doma ina od patogenih mikroorganizama, a smatra se da ima i važnu ulogu u regulaciji crijevnih bakterija (Vijay-Kumar i sur. 2010). Stanice uro ene imunosti izražavaju transmembranske receptore nazvane Toll-like receptori (TLR). TLR5 je u velikoj mjeri eksprimiran na stanicama makrofaga, dendriti kim stanicama, neutrofilima i crijevnim epitelnim stanicama. TLR5 direktnom interakcijom prepoznaje evolucijski konzerviranu strukturu specifi nu za bakterijski flagelin, koja je esencijalna za formiranje protofilamenata i bakterijsku pokretljivost. Preko TLR5 aktiviraju se stanice uro ene imunosti te proizvode medijatore upale (Smith i sur. 2003). Vijay-Kumar i suradnici pokazali su da miševi deficijenti u genu za TLR5 (T5KO miševi) pokazuju glavna obilježja metaboli kog sindroma.

Usporedbom T5KO miševa s miševima divljeg tipa ustanovljeno je da T5KO miševi imaju 20% ve u tjelesnu masu. Magnetskom rezonancijom pokazano je da T5KO miševi imaju pove anu koli inu masnog tkiva u tijelu, a posebno visceralnog masnog tkiva. Pove ana koli ina masnog tkiva korelirala je sa zna ajnim porastom razine triglicerida i kolesterola u serumu, te sa povišenim krvnim tlakom (Slika 5.). Te su osobine esto povezane s metaboli kim sindromom. U masnom tkivu T5KO miševa prisutna je ve a koli ina proupalnih citokina (interferon- i interleukin-1 ) nego u masnom tkivu miševa divljeg tipa što ukazuje na to da pretilost ima ulogu u održavanju stanja blage upale.



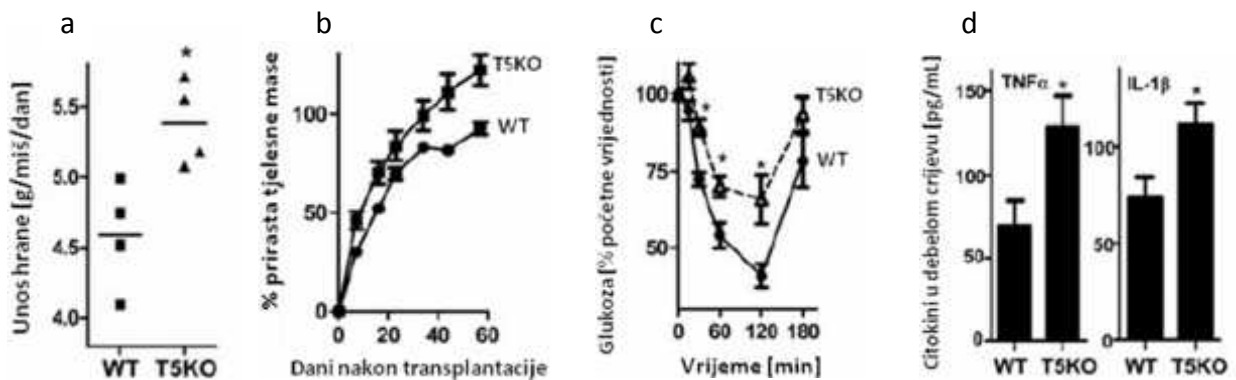
**Slika 5.** (a) Tjelesna masa. (b) Slike dobivene magnetskom rezonancijom pokazuju distribuciju masnog tkiva. (c) Fotografija abdomena reprezentativnih mužjaka miševa starih 20 tjedana. (d) Trigliceridi u serumu. (e) Kolesterol u serumu. (f) Krvni tlak (preuzeto i prilagođeno na temelju Vijay-Kumar i sur. 2010).

Nakon 15 sati gladovanja izmjerena je razina glukoze u krvi T5KO miševa i miševa divljeg tipa. T5KO miševi imali su blago povišenu razinu glukoze u krvi u odnosu na miševe divljeg tipa, dok im je razina inzulina bila znatno povišena. T5KO miševi također su pokazali slabiji odgovor na egzogeno dodan inzulin u usporedbi s miševima divljeg tipa. Ta obilježja odgovaraju stanju inzulinske rezistencije, koja je često prisutna u ljudi s metaboličkim sindromom. Kad su miševi jeli hranu bogatu zasićenim masnoćama, obilježja metaboličkog sindroma su se dodatno pogoršala.

T5KO miševi konzumiraju otprilike 10% više hrane nego miševi divljeg tipa. Kalorimetrijska analiza fecesa T5KO miševa i miševa divljeg tipa nije pokazala značajne razlike u efikasnosti ekstrahiranja kalorija iz hrane. Da bi istražili ulogu hiperfagije (prekomjernog apetita) na metaboličke osobine T5KO miševa, znanstvenici su 12 tjedana T5KO miševima i miševima divljeg tipa davali ograničene količine hrane (one količine koje je konzumirala kontrolna grupa miševa divljeg tipa koji su hranjeni ad libitum). Ovakva prehrana prije bilo je pojavu brojnih simptoma metaboličkog sindroma u T5KO miševa, uključujući i povišenu tjelesnu masu i količinu masnog tkiva, te povišene razine glukoze, lipida i inzulina u serumu. Međutim, iako više nisu bili pretili, T5KO miševi i dalje su pokazivali smanjenu reakciju na egzogeni inzulin, što ukazuje na to njihova inzulinska rezistencija ne ovisi samo o pretilosti i prekomjernom unosu hrane. Budući da inzulin djeluje tako da smanjuje unos hrane, ovi rezultati ukazuju na to da stanje kronične blage upale T5KO miševa oslabljuje inzulinsku signalizaciju, što rezultira prekomjernim unosom hrane koji vodi do pojave ostalih obilježja metaboličkog sindroma.

Da bi istražili u inak gubitka TLR5 na sastav crijevnih bakterija, znanstvenici su sekvencirali 16S rRNA gene iz cekuma T5KO miševa i miševa divljeg tipa. Rezultati su pokazali ovakvu zastupljenost bakterijskih koljena: 54% Firmicutes, 39.8% Bacteroidetes, 1.1% Proteobacteria, <0.2% Tenericutes, Actinobacteria, TM7 i Verrucomicrobia. Za razliku od *ob/ob* miševa, bakterijske zajednice T5KO miševa i miševa divljeg tipa imale su sličnu relativnu zastupljenost koljena Firmicutes i Bacteroidetes. Međutim, njihove zajednice značajno su se razlikovale u sastavu bakterijskih vrsta. Pronađeno je 116 bakterijskih vrsta iz različitih koljena koje su konstantno bile jače ili slabije zastupljene u T5KO miševa u odnosu na miševa divljeg tipa. Za razliku od *ob/ob* miševa kod kojih se promjene bakterijskih zajednica događaju na razini koljena, gubitak TLR5 kod T5KO miševa uzrokuje promjene na razini vrsta bakterija. Ove vrste bakterija srodne su vrstama koje se nalaze u crijevima ljudi.

Kada se crijevne bakterije T5KO miševa transplantiraju u sterilne miševa divljeg tipa oni razviju mnoge fenotipske značajke prisutne kod T5KO miševa, kao što su hiperfagija, pretilost, hiperglikemija, inzulinska rezistencija i povišena razina proupalnih citokina (Slika 6.). Ovi rezultati sugeriraju da promjene u sastavu crijevnih bakterija doprinose razvoju metaboličkog sindroma, te da prve bakterije kojima je pojedinac izložen mogu ostaviti dugotrajan utjecaj na njegov metabolički fenotip.



**Slika 6.** U sterilne miševa divljeg tipa transplantirane su crijevne bakterije miševa divljeg tipa ili T5KO miševa. (a) Unos hrane 10-13 dana nakon transplantacije. (b) Tjelesna masa. (c) Inzulinska osjetljivost. Nakon 5h gladovanja miševima je intraperitonealno injektiran inzulin. (d) TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$  u debelom crijevu (preuzeto i prilagođeno na temelju Vijay-Kumar i sur. 2010).

Još nisu poznati molekularni mehanizmi kojima interakcija imunološkog sustava i crijevnih bakterija uzrokuje razvoj metaboli kog sindroma. Pretpostavlja se da gubitak TLR5 uzrokuje promjene u sastavu crijevnih bakterija, što izaziva stanje blage upale i uzrokuje desenzitizaciju inzulinskih receptora. To dovodi do prekomjernog apetita koji potiče pojavu ostalih simptoma metaboli kog sindroma (Vijay-Kumar i sur. 2010).



## 5. ZAKLJUČCI

Povezanost izme u prekomjerne težine i mikrobioma je složena, te je teško sa sigurnoš u odrediti jesu li promjene u bakterijskim zajednicama uzrok, doprinos ili posljedica pretilosti. Neki znanstvenici smatraju da je glavni uzrok sve ve eg broja pretilih ljudi ipak prekomjeran unos energije, dok su drugi uvjereni da su bakterije glavni uzrok epidemije pretilosti (Pennisi 2011).

Kod istraživanja crijevnih bakterija javljaju se razni problemi. Ve inu tih bakterija nije mogu e uzgojiti u kulturi, što otežava procjenu njihove uloge u zdravlju i bolesti ovjeka. Tako er, u mnogim slu ajevima rezultate dobivene na miševima nije mogu e primijeniti na ovjeka. Za razliku od eksperimenata na miševima, na ljudima je vrlo teško provoditi kontrolirane eksperimente unosa hrane i njenog utjecaja na zajednicu crijevnih bakterija.

Iako je prekomjeran unos energije u odnosu na njenu potrošnju neposredan uzrok pretilosti, rezultati dosadašnjih istraživanja sugeriraju da promjene u interakciji izme u doma ina i njegovih crijevnih bakterija barem djelomi no uzrokuju razvoj metaboli kog sindroma. Ovim problemom bavi se sve više istraživa a, uklju uju i nutricioniste, imunologe, epidemiologe, mikrobiologe i specijaliste prehrambene medicine (Shanahan i Murphy 2011). Nova saznanja o funkcioniranju mikrobioma i na ina na koji on utje e na zdravlje i bolest ovjeka mogla bi omogu iti nove strategije u prevenciji pretilosti. Promjene u prehrani, probiotici ili lijekovi koji djeluju na klju ne bakterije i njihovu interakciju s imunološkim sustavom mogli bi se koristiti za poboljšanje zdravlja.

## 6. LITERATURA

- Bäckhed F, 2005. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science* **307**, 1915-1920.
- Gill S.-R., 2006. Metagenomic Analysis of the Human Distal Gut Microbiome. *Science* **312**, 1355-1359.
- Jones N, 2011. Gut study divides people into three types. *Nature News* (preuzeto iz <http://www.nature.com/news/2011/110420/full/news.2011.249.html>)
- Ley R.-E., 2006. Human gut microbes associated with obesity. *Nature* **444**, 1022-1023.
- Pennisi E, 2011. Girth and the Gut (Bacteria). *Science* **332**, 32-33.
- Pennisi E, 2009. Gut Reactions. *Science* **324**, 1136-1137.
- Sandoval D.-A., 2010. The Microbes Made Me Eat It. *Science* **328**, 179-180.
- Shanahan F, Murphy E, 2011. The hybrid science of diet, microbes and metabolic health. *Am J Clin Nutr* **94**, 1-2.
- Smith K.-D., 2003. Toll-like receptor 5 recognizes a conserved site on flagellin required for protofilament formation and bacterial motility. *Nature Immunology* **4**, 1247-1253.
- Turnbaugh P.-J., 2009. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* **457**, 480-484.
- Turnbaugh P.-J., 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* **444**, 1027-1031.
- Vijay-Kumar M, 2010. Metabolic Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. *Science* **328**, 228-231.
- Wu G.-D., 2011. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* **334**, 105-108.

[www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms](http://www.nhlbi.nih.gov/health/health-topics/topics/ms)

[www.scribd.com/doc/55009530/IDF-Meta-Def-Final](http://www.scribd.com/doc/55009530/IDF-Meta-Def-Final)

## 7. SAŽETAK

Metabolički sindrom je niz povezanih poremećaja koji dovode do razvoja dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti. Usko je povezan s pretilošću, smanjenom fizičkom aktivnošću i inzulinskom rezistencijom. U zadnje vrijeme smatra se da crijevne bakterije pridonose razvoju pretilosti i ostalim aspektima metaboličkog sindroma.

U debelom crijevu uvijek nalazi se mnoštvo različitih bakterija koje sudjeluju u sintezi esencijalnih aminokiselina i vitamina, te razgrađuju različite polisaharide koji su nama neprobavljivi. Među ljudima postoje razlike u sastavu crijevnih bakterija. Prema dominantnim rodovima izdvojena su 3 enterotipa: *Bacteroides*, *Prevotella* i *Ruminococcus*.

Istraživanja provedena na miševima i ljudima pokazala su da se crijevne bakterijske zajednice pretilih i mršavih pojedinaca razlikuju u zastupljenosti bakterijskih koljena Firmicutes i Bacteroidetes. Kod pretilih pojedinaca smanjena je raznolikost vrsta crijevnih bakterija. U njih dominira koljeno Firmicutes, ali sa smanjenjem tjelesne mase povećava se zastupljenost koljena Bacteroidetes. Genotip određuje na sastav crijevnih bakterija, a njihova efikasnost u ekstrahiranju energije iz hrane utječe na predispoziciju za razvoj pretilosti.

Drugi pristup problemu naglašava ulogu interakcije urođenog imunološkog sustava sa crijevnim bakterijama u razvoju pretilosti. Gubitak TLR5 receptora koji se nalazi na stanicama urođene imunosti i prepoznaje bakterijski flagelin, u miševa uzrokuje promjene u sastavu crijevnih bakterija. To dovodi do stanja blage upale (povećava se količina proupalnih citokina u masnom tkivu) i smanjuje osjetljivost inzulinskih receptora. Rezultat je prekomjerni apetit što potiče pojavu ostalih simptoma metaboličkog sindroma.

Pretilost je izravna posljedica prekomjernog unosa energije u odnosu na potrošnju. Međutim, istraživanja ukazuju da interakcija između gena i njegovih crijevnih bakterija ipak može utjecati na razvoj metaboličkog sindroma.

## 8. SUMMARY

Metabolic syndrome is a group of related disorders that lead to the development of diabetes and cardiovascular disease. It is related to obesity, physical inactivity and insulin resistance. Lately, it is considered that gut bacteria contribute to development of obesity and other aspects of metabolic syndrome.

There are numerous bacteria in human distal gut that synthesize essential amino acids and vitamins, and contribute to degradation of otherwise indigestible polysaccharides. Composition of gut bacteria differs between humans. They are divided into three enterotypes named after the dominant genus: *Bacteroides*, *Prevotella* and *Ruminococcus*.

Studies on mice and humans have shown that there are differences in abundance of Firmicutes and Bacteroidetes between gut bacteria of obese and lean individuals. Obese individuals have less diverse gut bacterial species. They have more Firmicutes, but as they lose weight, abundance of Bacteroidetes increases. Host genotype affects gut bacterial composition, and their efficiency of extracting energy from food contributes to development of obesity.

A different approach emphasizes the role of interaction between innate immune system and gut bacteria in development of obesity. Loss of TLR5, a receptor found on innate immunity cells that recognizes bacterial flagellin, causes change of gut bacterial composition in mice. That leads to low-grade inflammation (the amount of proinflammatory cytokines in adipose tissue increases) and insulin receptor desensitization. That results in hyperphagia, which contributes to development of other metabolic syndrome symptoms.

Obesity is directly caused by surplus of energy consumption over expenditure. However, studies show that interaction between host and his gut bacteria can affect the development of metabolic syndrome.