

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Stella Lazić

Značaj ljudske prehrane u mikrobioti crijeva

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Stella Lazić

**The importance of human nutrition in the gut
microbiota**

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Biologija na Botaničkom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv.prof.dr.sc Sunčice Bosak.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Značaj ljudske prehrane u mikrobioti crijeva

Stella Lazić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Razni mikroorganizmi poput arheja, bakterija, gljivica i virusa nastanjuju gastrointestinalni trakt životinja, gdje su gusto naseljene bakterijske zajednice uključene u velik broj procesa u organizmu kao što su metabolizam hranjivih tvari, zaštita od patogena, održavanje strukturnog integriteta barijere crijevne sluznice i imunomodulacija. Također mnogo toga utječe na razvijanje i mijenjanje crijevne mikrobiote tijekom života, od kojih posebice izdvajamo prehranu. U svijetu se sve više širi zapadnjački tip prehrane, bogat životinjskim proteinima, zasićenim mastima, jednostavnim šećerima, a jako malo hrane biljnog porijekla; iz ovih razloga sve je više kroničnih bolesti u svijetu. Kao bolji izbor prehrane je predstavljena mediteranska prehrana koja sadržava visoki unos vlakana i drugih ugljikohidrata, bogata je mono i poli nezasićenim masnim kiselinama, visokim razinama polifenola i drugih antioksidansa, te ima veći unos biljnih nego životinjskih proteina. Svaki organizam posjeduje jedinstven sastav crijevne mikrobne zajednice te ne može jedan tip prehrane svima odgovarati, te se preporučuje prakticiranje personaliziranog pristupa, uz što rjeđe korištenje antibiotika te korištenje probiotika i prebiotika u obnovi izgubljenih dobrih bakterija.

Ključne riječi: bakterije, SCFA, zdravlje, ugljikohidrati, vlakna
(27 stranica, 7 slika, 0 tablica, 74 literaturnih navoda, jezik izvornika: Hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv.prof dr.sc. Sunčica Bosak

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

The importance of human nutrition in the gut microbiota

Stella Lazić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Various microorganisms such as archaea, bacteria, fungi and viruses inhabit the gastrointestinal tract, where bacterial communities form one of the most densely populated bacterial populations in the world involved in many essential processes: metabolism of nutrients, protection against pathogens, maintenance of the structural integrity of the intestinal mucosal barrier and immunomodulation. Also, many things influence the development and change of the intestinal microbiota during life, of which we particularly single out nutrition. The Western type of diet, rich in animal proteins, saturated fats, simple sugars, and very little food of plant origin, is spreading more and more in the world; for these reasons there are more and more chronic diseases in the world. The Mediterranean diet, which contains a high intake of fiber and other carbohydrates, is rich in mono- and poly-unsaturated fatty acids, high levels of polyphenols and other antioxidants, and has a higher intake of vegetable than animal proteins, is presented as a better choice of diet. Everyone has a unique intestinal microbiota, and therefore one type of diet cannot suit everyone, and for this reason, personalized approach should be practiced, with the use of antibiotics as rarely as possible and the use of probiotics and prebiotics to restore lost good bacteria.

Keywords: bacteria, SCFA, health, carbohydrates, fibers
(27 pages, 7 figures, 0 tables, 74 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Dr.sc. Sunčica Bosak, Assoc.Prof.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Uloge crijevne mikrobiote	3
3. Važnost prvih stadija života u uspostavljanju crijevne mikrobiote	4
4. Sastav crijevne mikrobiote	6
5. Enterotipovi	8
6. Način istraživanja crijevne mikrobiote	9
7. Značaj prehrane	10
7.1. Proteini	10
7.2. Masti.....	11
7.3. Ugljikohidrati	12
7.4. Polifenoli	13
7.5. Studije o načinu prehrane	14
8. Antibiotici	17
9. Probiotici, prebiotici	17
10. Zaključak	19
11. Literatura	21
12. Životopis	27

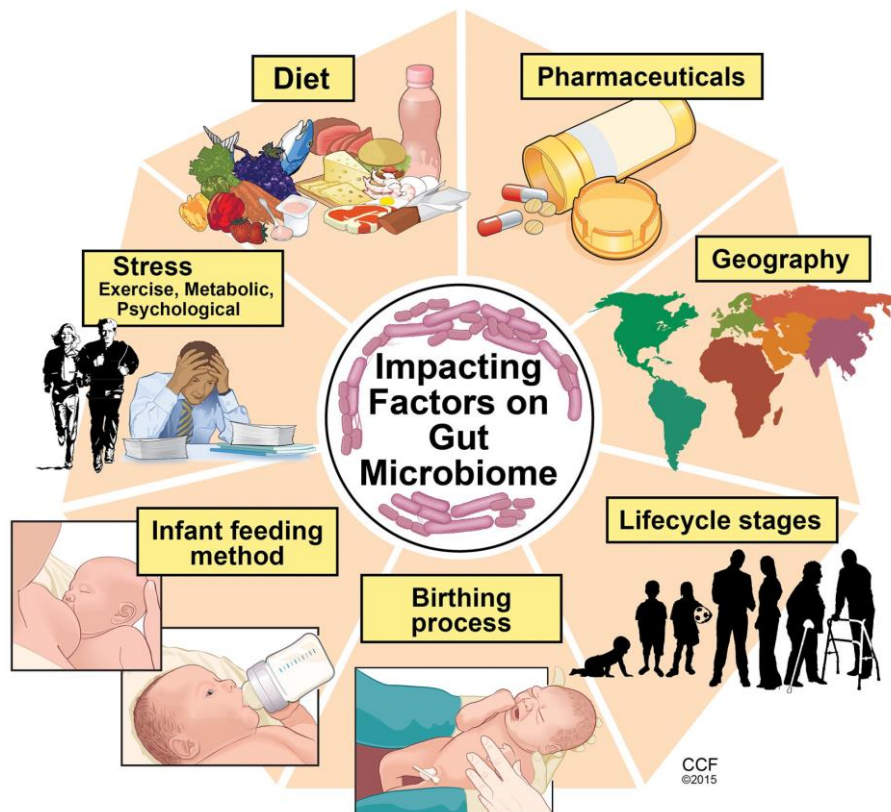
1. Uvod

Cijeli ljudski organizam je nastanjen raznim mikrobima, od kojih se posebice izdvaja gastrointestinalni trakt u kojem se nalazi ekosustav iznimne važnosti, a sadrži razne mikroorganizme poput arheja, bakterija, gljivica i virusa (Cresci 2015). U ovome radu će fokus biti na bakterijskoj zajednici u crijevima, kao mjestu gdje su bakterijske populacije iznimno gusto naseljene te se njihov broj procjenjuje na 10^{11} do 10^{12} po mililitru (Cresci 2015). Dva važna pojma koja je bitno razlikovati su: 1. „mikrobiom“ koji se odnosi na skup svih gena mikroorganizama koji žive unutar i izvan organizma, te 2. „mikrobiota“ koji se odnosi na zajednice tih mikroorganizama.

Popularizaciji mikrobioma zaslužan je Projekt ljudskog mikrobioma (HMP, Human Microbiome Project), na temelju čijih rezultata smo došli do brojnih saznanja o funkciji i strukturi ljudskog mikrobioma. Neke od uloga crijevne mikrobiote su: metabolizam hranjivih tvari, zaštita od patogena, održavanje strukturnog integriteta barijere crijevne sluznice i imunomodulacija (Rinninella i sur. 2019). „Hipoteza higijene“ objašnjava povezanost mikrobioma i autoimunih bolesti te je pokazano da su poremećaji u razvoju i regulaciji imunskog sustava rezultat neučinkovitog mikrobioma (Voreades 2014). Mikroorganizme imunološki sustav gleda kao patogene, no većina crijevnih bakterija je nepatogeno te živi u simbiotskom odnosu sa crijevom. Imunološki sustav je koevoluirao sa određenim mikrobima, te im čak pomažu u borbi protiv invazivnih patogenih mikroorganizama (Jandhyala i sur. 2015).

Rezultati istraživanja HMP-a su pokazali da postoji poveznica između načina života i povijesti pojedinaca sa sastavom mikrobiote. Brojni čimbenici utječu na mikrobiotu crijeva; način rađanja, hranjenje djeteta, postepeno starenje, vrsta prehrane, mjesto i način života, lijekovi i stres (Cresci 2015). U ovome radu biti će objašnjeni neki od tih čimbenika, ali poseban osvrt će biti na utjecaj prehrane na crijevu mikrobiotu. Pokazatelj da prehrana ima veliki utjecaj se može pronaći u nekoliko studija gdje je nekad čak unutar 24h dovoljno da se promijeni sastav mikrobnih zajednica iako se ubrzo vrati u prvotno stanje (Voreades i sur. 2014). Upravo se iz ovih razloga smatra da svaki pojedinac ima jedinstveni profil crijevne mikrobiote i sukladno tome ne postoji jedan optimalan sastav mikrobiote, već je on drugačiji za svakog (Rinninella i sur. 2019). Biljna vlakna i probiotici predstavljaju put kojim se može modulirati mikrobiota (Holscher 2017).

U ovome seminarskom radu prvo ćemo se upoznati sa ulogama crijevne mikrobiote, kako se razvija, zatim njenom sastavu, a kao glavni dio ovog rada pozabaviti ćemo se sa izvedenim studijima koje pričaju o značaju prehrane na crijevnu mikrobiotu.



Slika 1. Faktori koji utječu na razvoj i mijenjanje crijevne mikrobiote tijekom života. Preuzeto od Cresci (2015).

2. Uloge crijevne mikrobiote

Postoje brojni dokazi koji upućuju da crijevna mikrobiota doprinosi strukturnom razvoju crijevne sluznice, te također održavanju funkcije i strukture gastrointestinalnog trakta (Jandhyala i sur. 2015). Osim toga, ima značajnu ulogu u probavi, ona sudjeluje u ekstrakciji, sintezi i apsorpciji mnogih nutrijenata i metabolita kao što su žučna kiselina, lipidi, aminokiseline, vitamini i kratkolančane masne kiseline (SCFA) (Rinninella 2019). Kratkolančane masne kiseline (SCFA) poput acetata, propionata i butirata su glavni krajnji produkti probave neprobavljivih oligosaharida od strane organizama poput *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium* i *Enterobacteria* (Jandhyala i sur. 2015). SCFA imaju važnu ulogu u zdravlju crijeva; pomažu u održavanju crijevne barijere, moduliranju proliferacije, diferencijacije i apoptoze stanica, služe kao bitni nutrijenti za kolonocite (Cresci 2015) te izravno povećavaju količinu T regulatornih stanica u crijevima (Singh i sur. 2017). Pokazano je kako se pojedini anti-upalni spojevi i antioksidansi aktiviraju tek nakon mikrobne transformacije, a mogu se pronaći u hrani poput povrća, voća, žitarica, kave (Cresci 2015). Još jedna od uloga je i sinteza komponenti vitamina B i K, te također metabolizam polifenolnih sekundarnih metabolita kao tanina, flavanola i antocijanidina koji se primjerice nalaze u čaju, kakau, vinu (Jandhyala i sur. 2015).

Imunološki sustav se nalazi u nezgodnoj situaciji gdje mora biti tolerantan za korisne komenzale, a istovremeno držati pod kontrolom rezidentne patogene (Jandhyala i sur. 2015). Za zaštitu od progutanih patogena domaćinu je od koristi kisela želučana okolina, optimalan protok žuči, peristaltika crijeva i crijevna mikrobiota za koju se smatra da se natječe sa patogenima za vezna mjesta (Cresci 2015). Smatra se da komenzalne bakterije i tvari koje proizvode sudjeluju u održavanju homeostaze, regulaciji razvoja te u funkciji urođenih i adaptivnih imunskih stanica (Rinninella 2019). Ima nekoliko načina na koji se crijevna mikrobiota bori s patogenima; održavanjem crijevnog epitela sprečavaju prodor bakterija, zatim inhibiraju njihov rast, konzumiraju prisutne nutrijente ili čak proizvode bakteriocine (Rinninella 2015). Studije su pokazale da crijevna mikrobiota inducira lokalne imunoglobuline; *Bacteroides* aktiviraju intestinalne dendritične stanice, koje induciraju plazma stanice u crijevnoj sluznici za ekspresiju sekretornog imunoglobulina A (Jandhyala i sur. 2015).

Otkriveno je da prilikom konzumacije lijekova, u pretvaranju neaktivnih terapeutika i prehrambenih bioaktivnih tvari u aktivne oblike pomoćnu ulogu ima upravo crijevna mikrobiota (Carmody i Turnbaugh 2014; Sousa i sur. 2008; Peppercorn i Goldman 1972). Sa već ranije iznesenom činjenicom da svaka osoba ima unikatni crijevni mikrobiom, postavlja se pitanje da li su varijacije u odgovoru na lijekove među ljudima povezane sa razlikama u njihovom crijevnom mikrobiomu (Cresci 2015).

3. Važnost prvih stadija života u uspostavljanju crijevne mikrobiote

Najprije se smatralo kako je prvi doticaj sa mikrobima pri porođaju te da je gastrointestinalni (GI) trakt u maternici sterilan (Cresci 2015). Novija preliminarna istraživanja su pokazala prisutnost mikroorganizama u posteljici, amnionskoj tekućini i pupkovini (DiGiulio 2012; Jiménez i sur. 2005; Aagard i sur. 2014). Smatra se da se fetusu GI trakt počinje kolonizirati gutanjem amnionske tekućine pripadajućih bakterija u maternici (Moles i sur. 2013). Potrebna su detaljnija istraživanja zbog važne uloge majčine crijevne mikrobiote te prijenosa na dijete (Cresci 2015). Crijevna mikrobiota djeteta će nalikovati onoj mikrobioti s kojom se prvo susretne tijekom rođenja, stoga postoji znatna razlika između vaginalnog porođaja gdje se dijete inokulira vaginalnom mikrobiotom, poput organizma iz rodova *Lactobacillus* i *Prevotella* (Mackie i sur. 1999), te carskog reza gdje se inokulira mikrobiotom kože sa dominacijom organizama poput *Streptococcus*, *Corynebacterium*, i *Propionibacterium* (Dominguez-Bello i sur. 2010; Mackie i sur. 1999). Djeca rođena carskim rezom pokazuju manju raznolikost crijevne mikrobiote od djece rođene vaginalno (Biasucci i sur. 2008) te također pokazuju povećani rizik od kroničnih imunih bolesti, upalne bolesti crijeva (Sevelsted i sur. 2015) i pretilosti (Chen i sur. 2017).

Majčino mlijeko ima bitnu ulogu u početku života djeteta, ono sadrži sve nutrijente potrebne za rast i razvoj; sadrži brojne proteine, masti i ugljikohidrate, imunoglobuline i endokanabinoide. Osim nutrijenata ono sadrži i brojne korisne bakterije. Mlijeko sadrži neprobavljive oligosaharide koji imaju ulogu prebiotika, stimuliraju rast dobrih bakterija poput pripadnika roda *Bifidobacterium* (Cresci 2015). Pokazalo se da su te bakterije zaslužne za zaštitu od patogena tako što jačaju crijevnu sluznicu (Fukuda i sur. 2011) te također povećavaju proizvodnju imunoglobulina A (Ouwehand i sur. 2002). Logično se može zaključiti da dojenje ima prednost u

odnosu na hranjenje preko bočice adaptiranim mlijekom, a to se pokazalo i studijom da je povećani udio *Bifidobacterium* (Balmer i Wharton 1989) zabilježen kod dojene djece u usporedbi sa onom koja se nisu dojila te je također otkriveno da su dojena djeca obogaćena genima s funkcionalnošću virulencije i ekspresije gena povezanih sa imunološkim i obrambenim mehanizmima (Fukuda i sur. 2011). Razlika u bakterijskom sastavu dojenčadi se može objasniti i razlikama u prehrani majke. Kako bi se ova hipoteza istražila, potrebne su studije trudnih majki pri različitim tipovima prehrane (Voreades i sur. 2014).

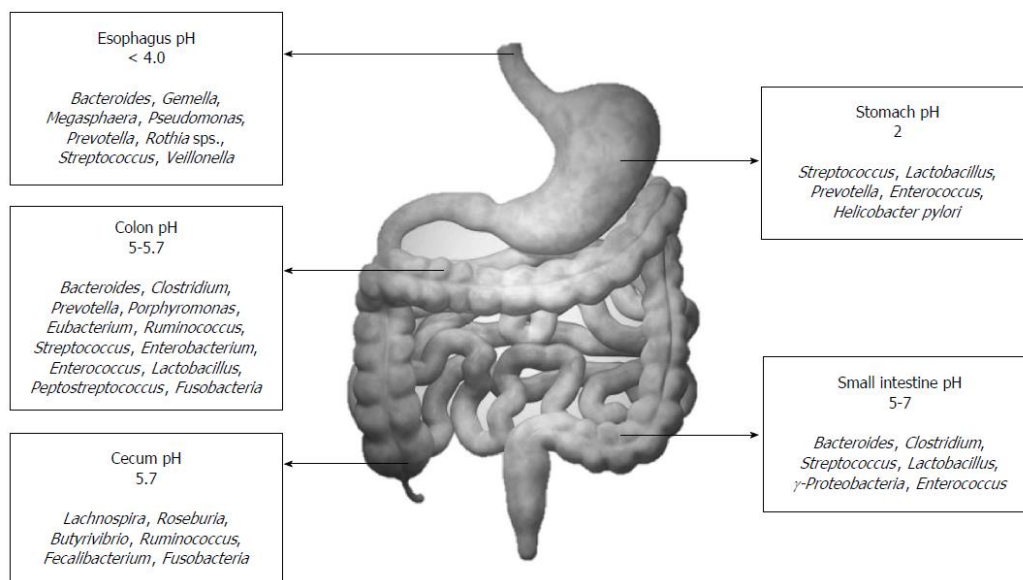
Dok dosegnu 2-3 godine, dječja crijevna mikrobiota počinje nalikovati odrasloj zbog upoznavanja s krutom hranom (Voreades i sur. 2014). Uvođenje hrane bogate vlaknima i životinjskim proteinom uzrokuje rast Bacteroidetes, a uvođenje hrane bogate vlaknima i ugljikohidratima uzrokuje povišenje koncentracije Firmicutes i *Prevotella* (Tanaka i Nakayama 2017). De Filippo i suradnici su usporedili mikrobiome crijeva talijanske i afričke djece nakon uvedene čvrste hrane i otkrili značajnu razliku. Prije upoznavanja sa određenim tipom prehrane, djeca obiju populacija koja su i dalje sisala, pokazivala su sličnosti u mikrobioti. Dojenje podržava posebno bakterijsko stanje koje se znatno razlikuje od onog promatranog kada se uvede čvrsta hrana, a nakon što se uvede čvrsta hrana, njezina uloga u stvaranju dugoročnog crijevnog mikrobioma je jako važna (De Filippo i sur. 2010). Otkrili su dominaciju *Prevotella* bakterija u afričke djece i nedostatak u talijanske, a ona je zaslužna za probavu kompleksnih biljnih polisaharida.

Prehrana ima glavni utjecaj za mijenjanje sastava crijevne mikrobiote tijekom ranih faza ljudskog razvoja. Odrastanjem flora dominantna *Bifidobacterium* kod dojenčadi se postepeno zamjenjuje onom kojom dominiraju Bacteroidetes i Firmicutes, te tako ostaje stabilno tijekom života ukoliko nema poremećaja poput česte upotrebe antibiotika ili dugotrajnih promjena u prehrani (Cresci 2015).

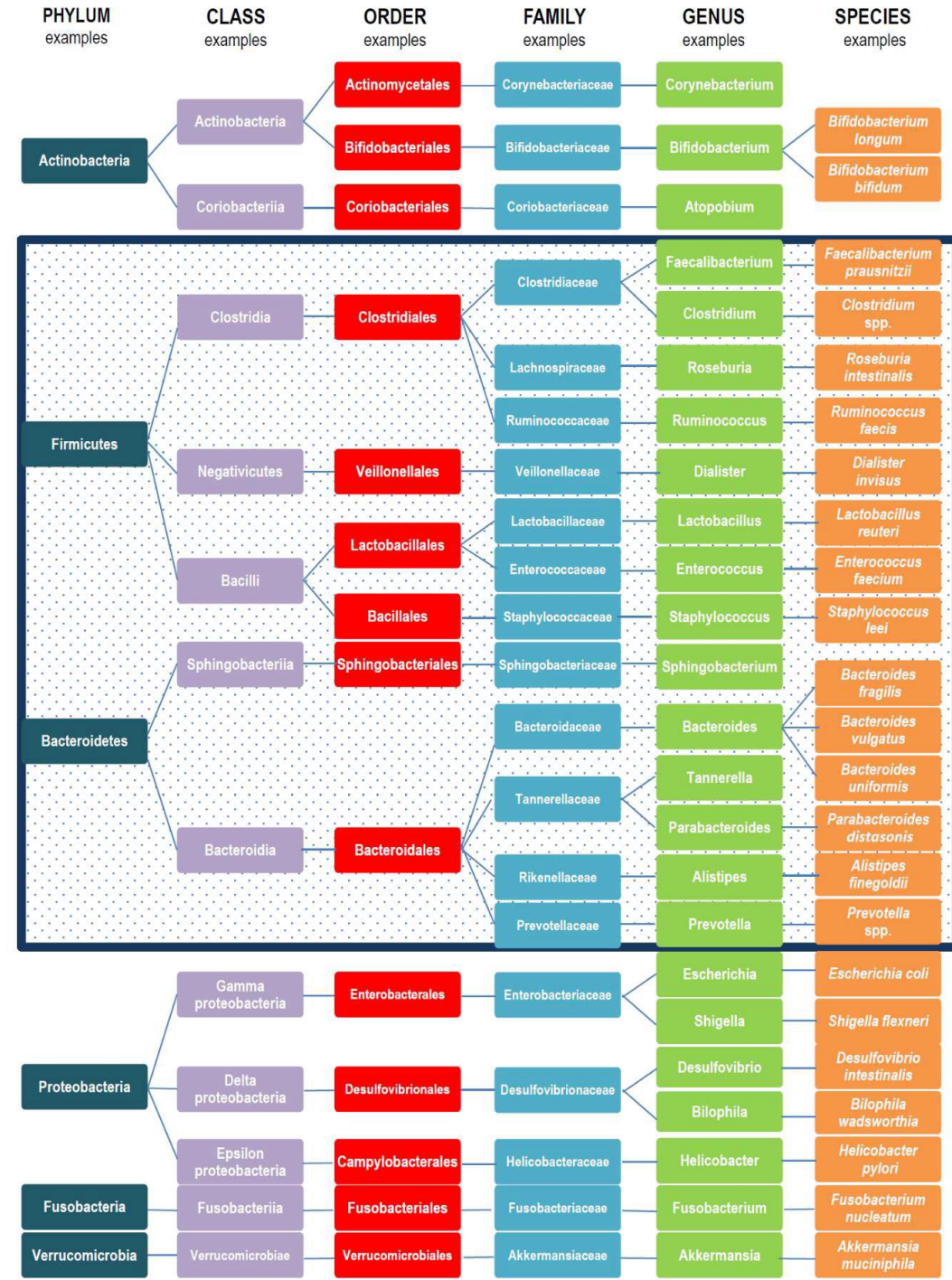
4. Sastav crijevne mikrobiote

Bacteroidetes i Firmicutes su dominantni razredi i čine čak 90% crijevne mikrobiote, osim njih pronalazimo Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria i Verrucomicrobia. Rodovi *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* i *Ruminococcus* su neki od predstavnika razreda Firmicutes, od kojih *Clostridium* čini čak 95%. *Prevotella* i *Bacteroides* su dominantni rodovi razreda Bacteroidetes (Arumugam i sur. 2011). Osim njih, ljudsko debelo crijevo sadržava i neke patogene poput *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica* te *Bacteroides fragilis*, ali s malom zastupljenošću (Jandhyala i sur. 2015).

Zdrava crijevna mikrobiota prema Jandhyala i sur. (2015) podrazumijeva obilje rodova poput *Bacteroides*, *Prevotella* i *Ruminococcus*, te nisku količinu Proteobacteria. Također se razlikuje i lokacija koja se promatra; u stolici se mogu identificirati dominantni rodovi luminalnih mikroba kao što su *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* i *Ruminococcus*. Od njih se samo *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* i *Akkermansia* nalaze i u sloju sluznice i epitelne kripe tankog crijeva (Jandhyala i sur. 2015).



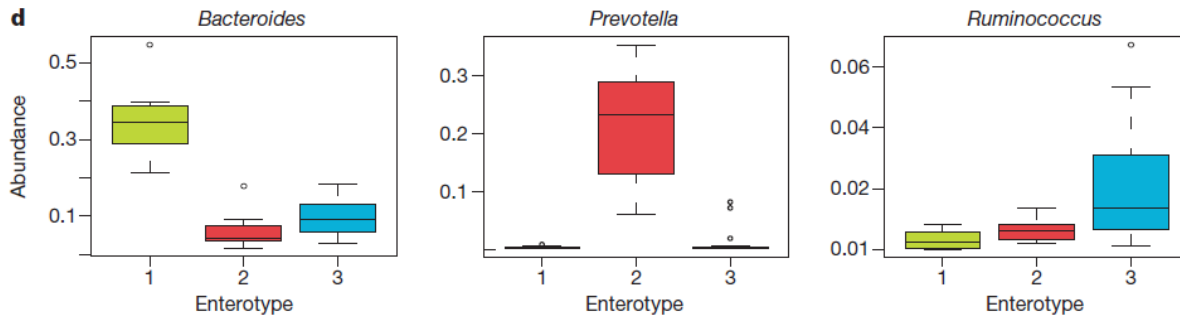
Slika 2. Distribucija normalne crijevne flore. Preuzeto od Jandhyala i sur. (2015).



Slika 3. Primjeri taksonomskog sastava crijevne mikrobiote. U okviru su navedeni primjeri bakterija koje pripadaju razredima Firmicutes i Bacteroidetes, koje predstavljaju 90% crijevne mikrobiote. Preuzeto od Rinninella i sur. (2019).

5. Enterotipovi

Arumugam i suradnici (2011) su sekvencionirali fekalne metagenome 22 pojedinaca iz Danske, Francuske, Španjolske i Italije te usporedili sa postojećim podacima od 13 pojedinaca iz Japana i 4 iz Amerike, sveukupno 39 pojedinaca. Otkrili su da se svakome pojedincu može pripisati jedan od tri enterotipa koji su neovisni o dobi, spolu, kulturnom podrijetlu i geografiji; *Bacteroides* (enterotip 1), *Prevotella* (enterotip 2) i *Ruminococcus* (enterotip 3) (Arumugam i sur. 2011; Christensen i sur. 2018). Na slici broj 4. je prikazana dominantnost pojedinih rodova bakterija za pojedini enterotip. Prvi enterotip je označen dominacijom roda *Bacteroides*. Bakterije ovog enterotipa imaju širok saharolitički potencijal dobivajući energiju fermentacijom životinjskih proteina i ugljikohidrata tako što kodiraju za enzime kao što su proteaze, heksoaminidaze i galaktozidaze (Arumugam i sur. 2011). Ovaj tip enterotipa se veže uz prehranu sa puno masti, ali malo vlakana (Christensen i sur. 2018). Drugi enterotip je *Prevotella* koji kao i treći *Ruminococcus* enterotip može djelovati u razgradnji glikoproteina mucina prisutnih u sloju sluznice crijeva (Arumugam i sur. 2011). *Prevotella* tip je karakterističan za prehranu bogatu ugljikohidratima, rezistentnim škrobom i vlaknima, te ga zato karakteriziraju brojni enzimi hidrolaze (Christensen i sur. 2018). Identifikacija enterotipa *Ruminococcus* ovisi o pristupima grupiranja i modeliranja, dok *Prevotella* i *Bacteroides* su tipovi najdosljednije identificirani diljem svijeta (Christensen i sur. 2018). *Prevotella* tip ima povećanu rasprostranjenost u zemljama u razvoju, dok *Bacteroides* u industrijaliziranim zemljama (Christensen i sur. 2018). Istraživanja su pokazala da *Bacteroides* enterotip ima najniže, a *Ruminococcus* enterotip najveće taksonomsko i funkcionalno bogatstvo. Raznolikost mikrobiote je također najveća u *Ruminococcus* tipu, dok su *Bacteroides* i *Prevotella* slične raznolikosti (Costea i sur. 2018). Tijekom duljih vremenskih razdoblja se sastav crijevne zajednice u odraslih ljudi ne mijenja značajno, što ukazuje na stabilnost ekosustava i enterotipa, no dugotrajne modulacije prehrane mogu imati snažan utjecaj na omjer Bacteroidetes/Firmicutes što potencijalno dovodi do promjena enterotipa. Klasifikacija crijevne mikrobiote bi se mogla pokazati korisnom u dijagnostici, terapiji, prevenciji bolesti putem personaliziranog tretmana odgovarajuće prehrane te mikrobne i farmaceutske intervencije (Costea i sur. 2018).



Slika 4. Prikaz brojnosti rodova bakterija u pojedinačnom enterotipu. Preuzeto od Arumugam i sur. (2011).

6. Način istraživanja crijevne mikrobiote

U početku su znanstvenici uspjeli izolirati samo 10%-25% mikrobiote koristeći tehnike temeljene na kulturama, a razlog leži u tome što je većina mikroorganizama u crijevima anaerobno. Kasnije, s poboljšanjima u tehnikama anaerobnog uzgoja su se uspjeli identificirati dominantni rodovi kao *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* itd. (Jandhyala i sur. 2015). Ekstrakcijom nukleinskih kiselina (DNA, RNA) iz ljudske stolice, znanstvenici mogu filogenetski identificirati i/ili kvantificirati komponente mikrobiote crijeva (Rinninela 2019). Trenutno je najčešće korištena tehnologija sekvencioniranja pri čemu se koristi 16S sekvenciranje bakterijskog gena temeljeno na ribosomskoj RNA i bioinformatička analiza (Jandhyala i sur. 2015). Rezultati sekvencioniranja 16S rRNA primarno daju informacije o identitetu, ali ne i mikrobnjoj funkciji. Iz tog razloga, mnogi se znanstvenici okreću „shotgun“ metagenomskom pristupu u kojem se cijeli bakterijski genom sekvencionira. Znajući koje bakterije imaju koje gene dobivamo uvid u njihovu ulogu u ljudskom životu (Singh i sur. 2017). Rastuće polje istraživanja mikrobiote je metabolomika koja proučava male molekule povezane u odnosu metabolizma domaćina i bakterija (Jandhyala i sur. 2015).

Za nadopunjavanje kliničkog istraživanja i određivanje mehanizama često se koriste pokusi na životinjama. Međutim, postoje ograničenja u takvim istraživanjima zbog fiziološke razlike u usporedbi s ljudima. Primjerice, za smanjenje prakticiranja koprofagije u štakora, mogu se koristiti kavezi sa žičanim dnom. Svinje imaju sličniju gastrointestinalnu fiziologiju pa predstavljaju bolji pretklinički model (Holscher 2017).

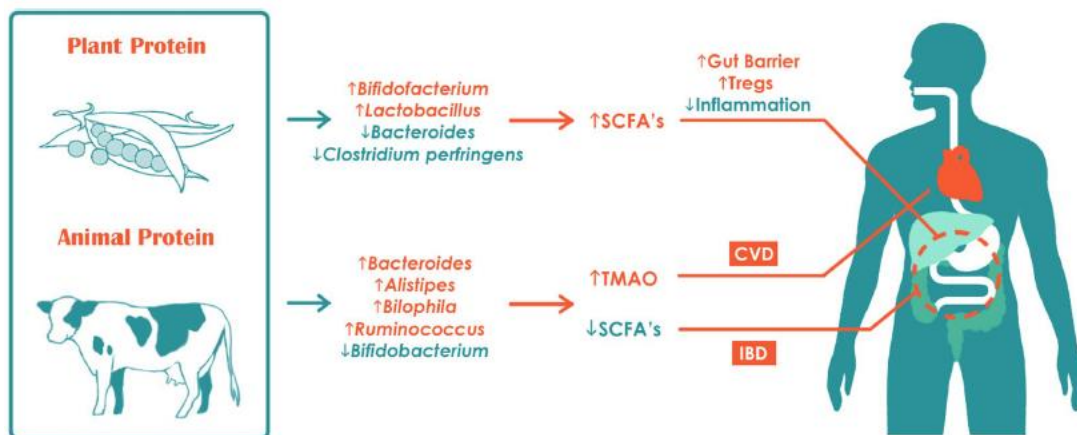
7. Značaj prehrane

7.1. Proteini

Pošto ljudi nisu u stanju sintetizirati brojne aminokiseline, proteini su važan dio uravnotežene prehrane bitne za zdravlje. Namirnice poput mesa, jaja i orašastih plodova nisu samo dobar izvor proteina, već i vitamina te hranjivih tvari poput željeza (Conlon i Bird 2015).

Provedena je studija u kojoj se dio sudionika hranio životinjskim proteinima (meso, jaja, sirutka), a dio vegetarijanskim izvorima kao što je grašak. Otkrili su da se u oba slučaja povećava broj crijevnih komenzala *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Sirutka dodatno smanjuje patogene *Bacteroides fragilis* i *Clostridium perfringens*, a za proteine graška je primijećeno povećanje razine SCFA u crijevima, koji su važni za održavanje mukozne barijere i protuupalne procese (Świątecka i sur. 2011; Meddah i sur. 2001; Romond i sur. 1998; Kim i sur. 2014). S druge strane, konzumacijom proteina životinjskog porijekla uočeno je povećavanje broja anaerobnih bakterija otpornih na žuč kao što su *Bacteroides*, *Alistipes* i *Bilophila* (David i sur. 2014; Reddy i sur. 1975; Cotillard i sur. 2013). Na slici 5. je prikazano koje se bakterije povećavaju pri konzumiranju određenog tipa proteina te kako utječu na zdravlje.

Brojne velike studije ukazuju na blagu, ali značajnu povezanost konzumacije velikih količina crvenog i prerađenog mesa s rizikom od raka debelog crijeva (Chao i sur. 2005; Norat i sur. 20015; World Cancer Research Fund 2007) zbog proizvodnje kancerogenih heterocikličkih amina (Butler i sur. 2003; Bouvard i sur. 2015). *Lactobacillus* i ostale bakterije koje proizvode mliječnu kiselinu potencijalno štite domaćina od oštećenja DNA i neoplazije tako što mogu izravno vezati heterocikličke amine (Zsivkovits i sur. 2003). Osim toga, crveno i prerađeno meso se povezuju sa povećanim rizikom kardiovaskularnih bolesti, a krivcima se smatraju zasićene masnoće i kolesterol (Siri- Tarino i sur. 2010). Crijevna mikrobiota metabolizira L-karnitin iz crvenog mesa u trimetilamin (TMA), on se zatim prenosi u jetru i pretvara u trimetilamin N-oksidi (TMAO) koji je povezan sa poticanjem ateroskleroze (Koeth i sur. 2013). Zabilježeno je da svejedi imaju više razine TMAO od vegana i vegeterijanaca (Zmora i sur. 2019).



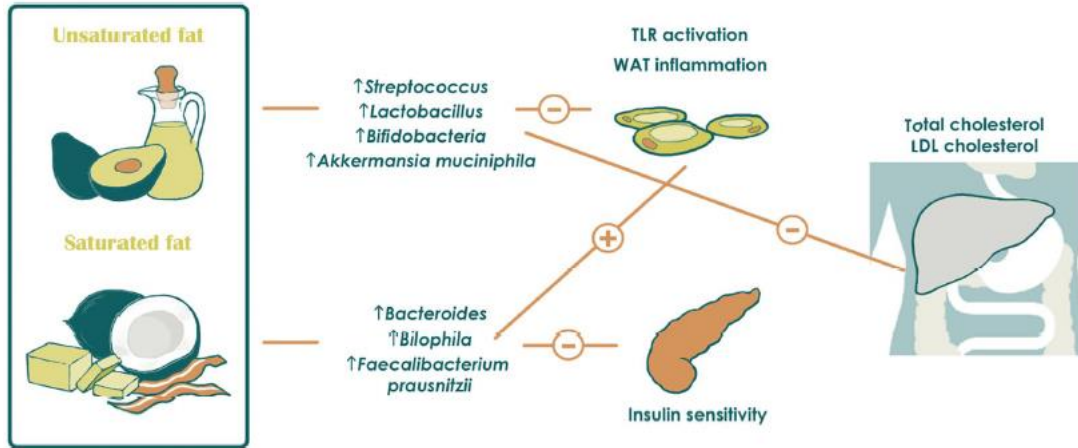
Slika 5. Utjecaj prehranjenih proteina na crijevnu mikrobiotu i zdravlje. SCFA su kratkolančane masne kiseline, TMAO je trimetilamin N-oksid, T-regs su T regulatorne stanice, CVD su kardiovaskularne bolesti, a IBD upalne bolesti crijeva. Preuzeto od Singh i sur. (2017).

7.2. Masti

Dugo se vremena mislilo da su masti uglavnom loše, te se favoriziralo smanjeni unos u prehrani zbog pretpostavljene povezanosti s kardiovaskularnim bolestima i pretilosti. Ministarstvo poljoprivrede SAD-a je 2015. godine izdalo nove prehranbene smjernice u kojima je rečeno da ne treba smanjiti ukupni unos masti, već treba optimizirati vrste masti koje se konzumiraju (Zmora i sur. 2019).

Povećana konzumacija zasićenih i trans masnih kiselina povećava rizik od kardiovaskularnih bolesti preko regulacije ukupnog i LDL-kolesterola u krvi, s druge strane, mono i polizasićene masti su ključne u smanjenju rizika od kroničnih bolesti te na taj način promiču zdravlje (Spady i sur. 1993; Stamler i sur. 2000). Zapadnjački tip prehrane je primjerice bogat zasićenim i trans masnim kiselinama, a siromašan spomenutim dobrim mastima, te zbog toga pojedinci takve prehrane imaju predispoziciju za mnoge zdravstvene probleme (Singh i sur. 2017). Prehrana bogata mastima ima veliku zastupljenost bakterija koje povećavaju razine lipopolisaharida (LPS-a) koji zatim u hematopoetskim stanicama signaliziraju poticanje debljanja, povišenje upalnih markera i inzulinske rezistencije (Zmora i sur. 2019). Miševi hranjeni svinjskom mašću su pokazali cvjetanje bakterija *Bacteroides*, *Turicibacter* i *Bilophila*, koji potiču upalne markere, masnoću i neosjetljivost na inzulin, dok miševi hranjeni nezasićenim ribljim uljem su pokazali ekspanziju

Bifidobacterium, *Akkermansia* i *Lactobacillus* uz nedostatak metaboličkih poremećaja (Caesar i sur. 2015). Na slici 6. je prikazan utjecaj određenih masti na crijevnu mikrobiotu te zdravlje.



Slika 6. Utjecaj prehrambenih masti na crijevnu mikrobiotu i metabolizam domaćina. TLR je toll-like receptor, WAT je bijelo masno tkivo, LDL je lipoprotein niske gustoće. Preuzeto od Singh i sur. (2017).

7.3. Ugljikohidrati

Zbog sposobnosti modificiranja crijevnog mikrobioma, ugljikohidrati su vjerojatno najbolje proučena komponenta u prehrani. Postoje dvije varijante ugljikohidrata: probavljivi (škrob, šećeri poput glukoze, saharoze, laktoze, fruktoze) i neprobavljivi (vlakna). Probavljivi šećeri se enzimski razgrađuju u tankom crijevu, dok neprobavljiva vlakna i rezistentni škrob putuju do debelog crijeva gdje su podvrgnuti fermentaciji rezidentnih mikroorganizama (Singh i sur. 2017). Bakterije koje mogu razgraditi glikane pripadaju rodovima *Bacteroides*, *Bifidobacterium* i *Ruminococcus* (Zmora i sur. 2019).

Unos vlakana se znatno razlikuje u industrijaliziranim i neindustrijaliziranim zemljama; zapadnjačke dijete imaju visok sadržaj životinjskih proteina, masti, šećera i škroba, ali nizak sadržaj vlakana, dok prehrana ruralnih zajednica primjerice u Africi imaju do sedam puta više povećan unos vlakana (Holscher 2017). Studije otkrivaju da se unosom dijetalnih vlakana povećava gastrointestinalna mikrobna raznolikost (Bourquin i sur. 1993; Bourquin i sur. 1966), dok nedostatak unosa rezultira iscrpljenosti trakta i povećanjem sklonosti kroničnih bolesti poput dijabetesa tipa 2, pretilosti, kardiovaskularnih bolesti i raka debelog crijeva (Deehan i Walter

2016). U istraživanjima pojedinci hranjeni visokim razinama glukoze i fruktoze u obliku datulja su imali povećanu brojnost *Bifidobacteria* i smanjenju *Bacteroides* (Parvin 2015; Eid i sur. 2014), a dodatak laktoze je rezultirao povećanjem fekalne koncentracije SCFA (Francavilla i sur. 2012). Još jedna dobit vlakana je primjer netopljivih vlakna kao celuloze koji su slabo fermentirani crijevnim mikrobima, ali njihovom prisutnošću se povećava brzina prolaska hrane, smanjuje intrakolonski tlak, razrjeđuje toksine i povećava učestalost defekacije (Stephen i Cummings 1980).

Potrošnjom vlakana postoji potencijal za neizravnu stimulaciju rasta drugih mikroba u gastrointestinalnoj zajednici. Često se to naziva unakrsnim hranjenjem; fermentacija polisaharida jedne bakterijske vrste daje supstrate (nusproizvode) za rast drugih bakterija u zajednici (Holscher 2017). Zanimljivo otkriće je dobiveno kada se životinje hrane s malo vlakana, a to je da dođe do pomaka izvora hranjivih tvari od vlakana do sloja crijevne sluznice, za što su zaslužne sluzrazgrađujuće bakterije poput *Akkermansia muciniphila* i *Bacteroides caccae*, što zatim narušava zaštitu od patogena tj. remeti funkciju crijevne barijere (Desai i sur. 2016). Morske alge su pokazale značajan pomak u crijevnoj mikrobioti kao dopuna hrani, one su bogat izvor vlakana te imaju različite biološke aktivnosti; antibakterijsko, antioksidativno, protuupalno, antikoagulantno, antivirusno, apoptotsko djelovanje te povećanje proizvodnje SCFA-a (Ramnani i sur. 2012). Iz ovih razloga morske alge pokazuju potencijal korištenja kao prebiotici. Za zamjenu prirodnog šećera i kao opcija bez kalorija predstavljeni su bili umjetni zaslađivači, no novija istraživanja pokazuju da konzumacija svih vrsta umjetnih zaslađivača će vjerojatnije izazvati intoleranciju na glukozu nego konzumacija čiste glukoze i saharoze (Suez i sur. 2014).

7.4. Polifenoli

U ljudsku prehranu biljke doprinose mnogobrojnim bioaktivnim tvarima. Osim vlakana, spomenuti ćemo i polifenole od kojih je nekoliko ih povezano sa zdravstvenom koristi (Zmora i sur. 2019). Miševi hranjeni sa puno masti su pokazali smanjenu upalu i pretilost nakon suplementacije polifenolima iz grožđa ili brusnice (Roopchand i sur. 2015; Anhe i sur. 2015). Polifenoli poput antocijanina, flavona, flavonola i katehina se aktivno proučavaju zbog svojstva antioksidansa (Singh i sur. 2017), osim toga, brojni su povezani i sa prevencijom bolesti poput raka i kardiovaskularnih bolesti (Soto-Vaca i sur. 2012). Namirnice koje su bogate ovim polifenolima su

grožđe, žitarice, čaj, vino, sjemenke, kakao i bobičasto voće (Conlon i Bird 2015; Singh i sur. 2017). Varijacija u načinu odgovora na konzumaciju polifenola se može naći u tome kako svaki pojedinac ima drugačiju mikrobiotu, i da bi se bolje razumio utjecaj na domaćina je potrebno identificirati bakterije koje sudjeluju u njihovom metabolizmu te kojim mehanizmom se to odvija (Zmora i sur. 2019).

7.5. Studije o načinu prehrane

Nakon iznesenih činjenica o pojedinim nutrijentima u prehrani, slijedeće je poželjno osvrnuti se na brojne studije koje ukazuju na odnos prehrane i crijevne mikrobiote te što možemo iz tih odnosa naučiti.

Kako smo prije naznačili, unos prehrane bogate vlaknima (voće, povrće) rezultira s većim bogatstvom i raznolikošću mikrobiote crijeva (Jandhyala i sur. 2015). Nažalost, u svijetu se sve više širi zapadnjački tip prehrane, bogat životinjskim proteinima, zasićenim mastima, jednostavnim šećerima, a jako malo hrane biljnog porijekla (Conlon i Bird 2015). Širenje takve prehrane osiromašene vlaknima povezano je i sa većom učestalošću kroničnih bolesti poput raznih kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2, pretilosti i raka (Conlon i Bird 2015; Gail 2015).

Proučavana je sposobnost modulacije crijevne mikrobiote nekoliko popularnih prehrana poput zapadnjačke, vegetarijanske, veganske, svejeda, bezglutenske i mediteranske (slika 7.). Na bezglutenskoj prehrani tijekom 30 dana došlo je do smanjenja populacije zdravih bakterija *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, dok se povećala populacija potencijalno nezdravih bakterija kao što *E. coli* i ukupne Enterobacteriaceae (Sanz 2010). Analizom i usporedbom fekalne flore pojedinaca na strogoj vegetarijanskoj ili veganskoj prehrani sa pojedincima koji su bili svejedi, rezultati su pokazali niže koncentracije vrsta *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *E. coli* i Enterobacteriaceae u onih sa vegetarijanskom i veganskom prehranom (Zimmer i sur. 2012). Kako u takvoj prehrani ima znatno više ugljikohidrata i vlakana, te neprobavljive polisaharide crijevna mikrobiota koristi tako da ih fermentira u SCFA, posredno proizvodnja SCFA rezultira smanjenjem pH u lumenu crijeva, stoga su pojedinci sa veganskom i vegetarijanskom prehranom imali niži pH stolice. Niže vrijednosti *E. coli* i Enterobacteriaceae se može objasniti činjenicom da one ne uspijevaju u nižim rasponima pH (5,5–6,5) te da kao izvor energije preferiraju proteine (Cresci

2015). Proučavanjem učinka veganske i vegetarijanske prehrane neke studije kao prethodno navedena bilježe skromne razlike vegana u odnosu na svejeda, dok druga studija otkriva znatno niži broj vrsta *Bifidobacterium* i *Bacteroides* (Wu i sur. 2014). Ove razlike u studijama se mogu objasniti korištenjem različite metodologije, različite prehrane kontrolne skupine ili je pak došlo do različitosti u grupama sudionika te iz toga razloga u budućnosti se trebaju provesti studije sa boljim eksperimentalnim dizajnom kako bi se dobio uvid u promjenama u mikrobioti (Singh i sur. 2017). Studija Davida i sur. (2014) je uspoređivala mikrobiome biljne i životinjske prehrane. Biljna prehrana je karakterizirana s puno vlakna, malo masti i proteina, a životinjska suprotno. Rezultati su pokazali da životinjska prehrana povećava obilje mikroorganizama otpornih na žuč kao što su *Alistipes*, *Bilophila* i *Bacteroides*, a smanjuje razine bakterija koje metaboliziraju biljne polisaharide kao što su razne Firmicutes (David i sur. 2014). Prehrana koje se najviše ističe kao zdrava i uravnotežena je mediteranska prehrana koja ima visok unos vlakana i drugih ugljikohidrata, bogata je mono i poli nezasićenim masnim kiselinama, visokim razinama polifenola i drugih antioksidansa, te općenito ima veći unos biljnih nego životinjskih proteina (Singh i sur. 2017).

Diet	Food constituents	Total bacteria	<i>Bifidobacteria</i>	<i>Lactobacilli</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Eubacteria</i>	<i>Roseburia</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Enterobacteria</i>
Western	High animal fat/protein	↓	↓	↓		↓		↑	↑
Mediterranean	High fiber/antioxidants/UFA low red meat	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	
Gluten-free	No gluten	↓	↓	↓	↓	↓	↓		↑

Slika 7. Učinci određenih dijeta na crijevnu mikrobiotu. UFA su nezasićene masne kiseline. Preuzeto od Singh i sur. (2017).

Studija o europskoj i afričkoj djeci je pokazala značajne geografske varijacije u mikrobiomu crijeva (Jandhyala i sur. 2015; Rinninella i sur. 2019; De Filippo i sur. 2010). Otkriveno je da afrička populacija ima enterotip *Prevotella* jer afrička prehrana sadrži malo lipida i životinjskih proteina, a bogata je prosom/sirkom i povrćem. Također su pokazali značajno manjkanje *Enterobacteriaceae* (*Shigella*, *Escherichia*). S druge strane, europska populacija uglavnom ima enterotip *Bacteroides* jer im je prehrana siromašnija vlaknima, a bogata lipidima i životinjskim proteinima (Jandhyala i sur. 2015; Rinninella i sur. 2019; De Filippo i sur. 2010).

Zanimljiva studija lovaca-skupljača plemena Tanzanije je pokazala razliku mikrobioma među spolovima s obzirom na podjelu rada povezanog s prehranom, također je otkriveno kako u potpunosti manjkaju bakterija *Bifidobacterium*, zbog nedostatka mesa i mliječnih proizvoda u prehrani (Schnorr i sur. 2014). Ruralno i poljoprivredno stanovništvo, kao i populacije lovaca-skupljača su pokazali povećano bogatstvo mikrobiote u usporedbi s modernim društvom. To nam sugerira da takav tip prehrane zahtijeva veći sastav bakterija kako bi se maksimizirao energetske unos iz biljnih vlakana, za razliku od zapadnjačkog tipa prehrane koji uglavnom konzumiraju prerađenu hranu, iako ovu tezu je potrebno formalno potvrditi (De Filippo i sur. 2010; Yatsunenko i sur. 2012; Schnorr i sur. 2014; Smits i sur. 2017; Obregon- Tito i sur. 2015; Martinez i sur. 2015; Clemente i sur. 2015). Iako je raznolikiji mikrobiom dobiven iz neindustrijaliziranih poljoprivrednih populacija, on se također pokazao i ujednačeniji po sastavu za razliku od mikrobioma dobivenog iz urbanih populacija. To se može objasniti zbog većeg izbora hrane u gradskom stanovništvu ili pak zbog povećanog raspršivanja fekalnog materijala u ruralnim područjima (Zmora i sur. 2019).

U modernom društvu sve je češća konzumacija prerađene hrane kao što su zaslađivači, konzervansi i emulgatori koji često sadrže prirodne ili sintetski proizvedene aditive (Zmora i sur. 2019). Regulatorna tijela smatraju ove dodatke za hranu sigurnima, no sa napretkom u sposobnosti proučavanja mikrobioma i njegove interakcije sa onim što se konzumira bit će važno utvrđivanje istinitosti te tvrdnje (Zmora i sur. 2019). Primjerice, pojedini emulgatori mogu dovesti do upala posredovane disbiozom jer mogu nagrizati zaštitnu epitelnu sluznicu crijeva (Chassaing i sur. 2015). Druga skupina prehrambenih dodataka su nekalorijski umjetni zaslađivači (NAS) koji se promoviraju kao strategija mršavljenja, no studije su pokazale proturječne rezultate. Neki od njih pokazuju korisnu ulogu u gubitku težine, dok druge izvješćuju o poticanju povećanja tjelesne težine i drugih poremećaja u metabolizmu (Zmora i sur. 2019). Ovi mješoviti ishodi konzumiranja NAS-a još jednom ukazuju na posebnost mikrobioma u svakom pojedincu, te su potrebne dodatne studije za razlikovanje koji bi pojedinci mogli imati korist od NAS-a, a koji bi ih trebali izbjegavati (Zmora i sur. 2019).

Osim kvalitativne vrijednosti hrane, bitna je i kvantiteta. Jedna studija je otkrila da kratkoročna restrikcija ugljikohidrata rezultira smanjenjem bakterija koje proizvode butirat zbog čega posljedično dovodi do promjena u mikrobnim zajednicama (Duncan i sur. 2007). Također, prehrambeni odabiri mogu imati međugeneracijske posljedice; nedostatak vlakna u prehrani

smanjuje raznolikost mikrobiote, što se može obnoviti tijekom jedne generacije, ali ukoliko nedostatak traje nekoliko generacija, ono čini neke svoje nepovratno izumrlim (Sonnenburg i sur. 2016).

8. Antibiotici

Posebice u starijih ljudi sve je češće korištenje lijekova i antibiotika koji imaju utjecaj na smanjenje raznolikosti i stabilnosti crijevne mikrobiote (Voreades i sur. 2014). Terapije antibioticima ne samo da utječu na patogene mikroorganizme, već utječu i na korisne mikrobne zajednice domaćina, te time znaju ostaviti dugotrajan negativan učinak na mikrobiotu crijeva dugo nakon prestanka uzimanja antibiotika (Jernberg i sur. 2007). Iako se većina mikrobiote vrati na prijašnje stanje prije liječenja antibioticima, neki članovi mogu nestati na neodređeno vrijeme. Poznato je da sve češće korištenje antibiotika rezultira širenjem sojeva otpornih na antibiotike (Lofmark i sur. 2006). Primjer je doziranje antibioticima životinje u poljoprivredi kako bi se stimulirao rast, no time se mijenja mikrobiota i potiče rezistencija (Smith i sur. 2002). Neke od promjena koje antibiotici mogu potaknuti su promjene u metabolitima koje proizvodi mikrobiota kao što su kratkolančane masne kiseline (SCFA).

9. Probiotici, prebiotici

Metchnikoff je bio prvi znanstvenik koji je sugerirao da se loše bakterije mogu zamijeniti dobrima te na taj način modificirati crijeva. Pretpostavio je da se konzumiranjem fermentiranih mliječnih proizvoda može boriti protiv štetnih bakterija (Cresci 2015). U novije vrijeme sve se više spominju probiotici i prebiotici za poboljšanje crijevne mikrobiote. Živi mikrobi čine probiotike, a prebiotici su nutrijenti poput raznih oligosaharida koji stimuliraju rast dobrih bakterija u crijevu (Voreades i sur. 2014). Često dolazi do kombinacije (sinbiotik) korištenja probiotika i prebiotika koji onda stimuliraju rast unešenih dobrih bakterija (Voreades i sur. 2014).

Bifidobacterium i *Lactobacillus*, koji su jako važni za normalnu funkciju crijeva, se često nalaze kao sastavni elementi probiotičke hrane (Voreades i sur. 2014). Toward i njegovi suradnici (2012) su pokazali da konzumacijom probiotika može doći do smanjenja patogenih organizama, a

povećanja količine dobrih bakterija. Dobre bakterije metaboliziraju većinu složenih ugljikohidrata i biljnih polisaharida koje ljudski enzimi nisu u stanju probaviti (Holscher 2017), dajući SCFA koje imaju pozitivan učinak na zdravlje domaćina (Jandhyala i sur. 2015). Česti izvori prebiotika su; soja, inulin, nerafinirana pšenica i ječam, sirova zob i neprobavljivi oligosaharidi (Singh i sur. 2017).

Postoje mnoge studije kojima je davanjem probiotika, prebiotika ili sinbiotika kritično bolesnim pojedincima cilj poboljšati i modificirati crijevni mikrobiom (Cresci 2015). Smatra se kako će se u novije vrijeme možda konzumacijom prebiotika liječiti depresija, anksioznost, sindrom iritabilnog crijeva. Razlog toga je otkriće hormonalne regulacije probave kao i također povezanost promijenjene fiziologije crijeva sa promijenjenom psihologijom, često se to naziva os crijeva-mozak (gut-brain axis). Smatra se da crijevna mikrobiota proizvodi metabolite kojima može modulirati biokemiju i ponašanje mozga (Cresci 2015).

10. Zaključak

Spomenute su brojne uloge crijevne mikrobiote; razgradnja i sinteza mnogih nutrijenata, sudjelovanje u borbi protiv patogena, pretvaranje neaktivnih terapeutika lijekova u aktivne itd. Kratko lančane masne kiseline bi se posebno mogle izdvojiti zbog njihove bitne uloge u održavanju crijevne barijere i imunomodulaciji, a nastaju razgradnjom neprobavljivih vlakana. Postoje mnogi čimbenici koji utječu na mikrobiotu kroz život pojedinca, gdje se prehrana pokazala kao najbitnijom. Već pri samom početku života je jasno prikazana dobrobit dojenja naspram hranjenja adaptivnim mlijekom jer osim što sadržava nutrijente potrebne za rast i razvoj, također sadržava i brojne dobre bakterije te neprobavljive oligosaharide za stimuliranje rasta tih dobrih bakterija. Arumugam i suradnici (2011) su otkrili da se svakome pojedincu može pripisati jedna od tri skupa (enterotipa) *Bacteroides* (enterotip 1), *Prevotella* (enterotip 2) i *Ruminococcus* (enterotip 3), kojima je studijama dokazano da su stabilni i da su potrebne dugotrajne modulacije prehrane kako bi se potencijalno promjenio tip enterotipa. Brojnim istraživanjima se zaključilo kako u većini slučajeva je bolje konzumirati biljne izvore proteina nego životinjske, jer je pokazano kako životinjski proteini smanjuju SFCA, povećavaju rizik raka debelog crijeva i kardiovaskularnih bolesti. Masti su dugo smatrane lošima, no studije pokazuju da treba samo pripaziti koji tip masti se konzumira; zasićene i trans masti povećavaju rizik od bolesti, dok mono i polizasićene masne kiseline promiču zdravlje. Ugljikohidrati su se pokazali kao najbitnija komponenta u prehrani jer se unosom vlakana povećava gastrointestinalna mikrobna raznolikost, dok nedostatak unosa rezultira povećanju sklonosti kroničnih bolesti poput dijabetesa tipa 2, pretilosti, kardiovaskularnih bolesti i raka debelog crijeva. Kao idealni tip prehrane se pokazala mediteranska prehrana sa visokim unosom vlakana i drugih ugljikohidrata, bogata je mono i poli nezasićenim masnim kiselinama, visokim razinama polifenola i drugih antioksidansa, te općenito ima veći unos biljnih nego životinjskih proteina. Nažalost, u svijetu se sve više širi zapadnjački tip prehrane, bogata životinjskim proteinima, zasićenim mastima, jednostavnim šećerima, a jako malo hrane biljnog porijekla te kao rezultat sve je više kroničnih bolesti. Očito je da jedan tip prehrane ne može svima odgovarati, te ujedno iz tog razloga što svatko ima unikatnu crijevnju mikrobiotu sve češće bi se trebala prakticirati personalizirana medicina, uz što rjeđe korištenje antibiotika te korištenje probiotika i prebiotika u obnovi izgubljenih dobrih bakterija. Naš se organizam sačinjava svega od 43% ljudskih stanica, dok veću polovicu ga čine mikroorganizmi, sa tim se pogledom teško osjećat

sam u ovome svijetu. Iz tog razloga bi trebali puno veću pažnju pružati našim pravim doživotnim partnerima. Zato su bitna istraživanja koja su navedena u ovome radu, ali i brojna koja slijede, kako bi bolje upoznali život oko nas, ali i u nama.

11. Literatura

Aagard K, Ma J, Antony K, et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med* **6**, 237–265 (2014).

Anhe, F. F. et al. A polyphenol- rich cranberry extract protects from diet- induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased Akkermansia spp. population in the gutmicrobiota of mice. *Gut* **64**, 872–883 (2015).

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E. et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* **473**, 174–180 (2011).

Balmer SE, Wharton BA. Diet and faecal flora in the newborn: breast milk and infant formula. *Arch Dis Child* **64**, 1672–7 (1989).

Biasucci, G.; Benenati, B.; Morelli, L.; Bessi, E.; Boehm, G. Cesarean delivery may affect the early biodiversity of intestinal bacteria. *J. Nutr.* **138**, 1796S–1800S. (2008).

Bourquin LD, Titgemeyer EC, Fahey GC, Jr. Vegetable fiber fermentation by human fecal bacteria: cell wall polysaccharide disappearance and short-chain fatty acid production during in vitro fermentation and water-holding capacity of unfermented residues. *J Nutr* **123**, 860-9 (1993).

Bourquin LD, Titgemeyer EC, Fahey GC. Fermentation of various dietary fiber sources by human fecal bacteria. *Nutr Res* **16**, 1119-31 (1996)

Bouvard, V. et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. *Lancet Oncol.* **16**, 1599–1600 (2015).

Butler, L. M. et al. Heterocyclic amines, meat intake, and association with colon cancer in a population-based study. *Am. J. Epidemiol.* **157**, 434–445 (2003).

Caesar, R., Tremaroli, V., Kovatcheva- Datchary, P., Cani, P. D. & Backhed, F. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *Cell Metab.* **22**, 658–668 (2015).

Carmody RN, Turnbaugh PJ. Host-microbial interactions in the metabolism of therapeutic and diet-derived xenobiotics. *J Clin Invest* **124**, 4173–4181. (2014).

Clemente, J. C. et al. The microbiome of uncontacted Amerindians. *Sci. Adv.* **1**, (2015).

Chao, A.; Thun, M.J.; Connell, C.J.; McCullough, M.L.; Jacobs, E.J.; Flanders, W.D.; Rodriguez, C.; Sinha, R.; Calle, E.E. Meat consumption and risk of colorectal cancer. *JAMA* **97**, 906–916 (2005).

Chassaing, B. et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome. *Nature* **519**, 92–96 (2015).

Chen, G.; Chiang, W.L.; Shu, B.C.; Guo, Y.L.; Chiou, S.T.; Chiang, T.L. Associations of caesarean delivery and the occurrence of neurodevelopmental disorders, asthma or obesity in childhood based on Taiwan birth cohort study. *BMJ Open* **7**, (2017).

Christensen, L., Roager, H.M., Astrup, A., Hjorth, M. Microbial enterotypes in personalized nutrition and obesity management, *The American Journal of Clinical Nutrition* **108**, Issue 4, 645–651 (2018).

Conlon, Michael A., and Anthony R. Bird. The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients* **7**, no. 1: 17-44 (2015).

Costea, P.I., Hildebrand, F., Arumugam, M. et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition. *Nat Microbiol* **3**, 8–16 (2018).

Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* **8**, 500-585 (2013).

David, L., Maurice, C., Carmody, R. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* **505**, 559–563 (2014).

De Filippo, C. et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **107**, 14691–14696 (2010).

Deehan EC, Walter J. The fiber gap and the disappearing gut microbiome: Implications for human nutrition. *Trends Endocrinol Metab* **42**, 27-239 (2016).

Desai, M. S. et al. A dietary fiber- deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell* **167**, 1339–1353 (2016).

DiGiulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med.* **17**, 2–11 (2012).

Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, Knight R. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* **107**,: 11971-11975 (2010).

Duncan, S. H. et al. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 1073–1078 (2007).

Eid N, Enani S, Walton G, Corona G, Costabile A, Gibson G, et al. The impact of date palm fruits and their component polyphenols, on gut microbial ecology, bacterial metabolites and colon cancer cell proliferation. *J Nutr Sci.* **3**, e46 (2014).

Francavilla R, Calasso M, Calace L, Siragusa S, Ndagijimana M, Vernocchi P, et al. Effect of lactose on gut microbiota and metabolome of infants with cow's milk allergy. *Pediatr Allergy Immunol* **7**, 23-420 (2012).

Fukuda S, Toh H, Hase K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* **7**, 469-543 (2011).

Gail A. Cresci, The Gut Microbiome: What we do and don't know PhD, RD, LD, CNSC [Associate Staff] and Department of Gastroenterology/Hepatology, *Nutr Clin Pract.* **30**(6): 734–746 (2015).

Holscher H.D. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota, *Gut Microbes*, **8:2**, 172-184 (2017).

Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., & Nageshwar Reddy, D. Role of the normal gut microbiota. *World journal of gastroenterology*, **21**(29), 8787–8803 (2015).

Jernberg C, Lofmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J.* **1**, 56–66 (2007).

Jiménez E, Fernández L, Marín M, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol.* **51**, 270–274 (2005).

Kim CH, Park J, Kim M. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids, T cells, and inflammation. *Immune Netw.* 14-277 (2014).

Koeth, R. A. et al. Intestinal microbiota metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat. Med.* **19**, 576–585 (2013).

Lofmark S, Jernberg C, Jansson JK, Edlund C. Clindamycin-induced enrichment and long-term persistence of resistant *Bacteroides* spp. and resistance genes. *J Antimicrob Chemother.* **58**, 1160–1167 (2006).

Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* **69**, 1035S-1045S (1999).

Martinez, I. et al. The gut microbiota of rural Papua New Guineans: composition, diversity patterns, and ecological processes. *Cell Rep.* **11**, 527–538 (2015).

Meddah AT, Yazourh A, Desmet I, Risbourg B, Verstraete W, Romond MB. The regulatory effects of whey retentate from bifidobacteria fermented milk on the microbiota of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME). *J Appl Microbiol.* **7**, 91-1110 (2001).

Moles L, Gomez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S, de Vos W, Fernández L, Rodríguez JM, Jiménez E. Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first months of life. *PLoS ONE* **8**, 1–13 (2013).

Norat, T.; Bingham, S.; Ferrari, P.; Slimani, N.; Jenab, M.; Mazuir, M.; Overvad, K.; Olsen, A.; Tjønneland, A.; Clavel, F.; *et al.* Meat, fish, and colorectal cancer risk: The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *J. Natl. Cancer Inst.* **97**, 906–916 (2005).

Obregon- Tito, A. J. et al. Subsistence strategies in traditional societies distinguish gut microbiomes. *Nat. Commun.* **6**, 6505 (2015).

Ouwehand A, Isolauri E, Salminen S. The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in early childhood. *Eur J Nutr.* **7**, 41(Suppl 1)-I32 (2002).

Parvin S. Nutritional analysis of date fruits (*Phoenix dactylifera* L.) in perspective of Bangladesh. *Am J Life Sci.* **3**, 274 (2015).

Peppercorn MA, Goldman P. The role of intestinal bacteria in the metabolism of salicylazosulfapyridine. *J Pharm Exp Ther.* **181**, 555–562 (1972).

Ramnani P, Chitarrari R, Tuohy K, Grant J, Hotchkiss S, Philp K, Campbell R, Gill C, Rowland I. In vitro fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. *Anaerobe* **18**, 1-6 (2012).

Reddy BS, Weisburger JH, Wynder EL. Effects of high risk and low risk diets for colon carcinogenesis on fecal microflora and steroids in man. *J Nutr.* **84**, 105-878 (1975).

Rinninella, E., Pauline R., Marco C., et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases *Microorganisms* **7**, no. 1-14 (2019).

Romond MB, Ais A, Guillemot F, Bounouader R, Cortot A, Romond C. Cell-free whey from milk fermented with *Bifidobacterium breve* C50 used to modify the colonic microflora of healthy subjects. *J Dairy Sci.* **35**, 81-1229 (1998).

Roopchand, D. E. et al. Dietary polyphenols promote growth of the gut bacterium *Akkermansia muciniphila* and attenuate high-fat diet-induced metabolic syndrome. *Diabetes* **64**, 2847–2858 (2015).

Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult humans. *Gut Microbes.* **7**, 1-135 (2010).

Schnorr, S. L. et al. Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nat. Commun.* **5**, 3654 (2014).

Schwartz S, Friedberg I, Ivanov I, Davidson LA, Goldsby JS, Dahl DB, et al. A metagenomic study of diet-dependent interaction between gut microbiota and host in infants reveals differences in immune response. *Genome Biology.* 13:r32. (2012).

Sevelsted, A.; Stokholm, J.; Bønnelykke, K.; Bisgaard, H. Cesarean section and chronic immune disorders. *Pediatrics* **135**, e92–e98 (2015).

Singh, R.K., Chang, HW., Yan, D. et al. Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. *J Transl Med* **15**, 73 (2017).

Siri-Tarino, P. W., Sun, Q., Hu, F. B. & Krauss, R. M. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **91**, 535–546 (2010).

Smith DL, Harris AD, Johnson JA, Silbergeld EK, Morris JG Jr. Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*. **99**, 6434–6439 (2002).

Smits, S. A. et al. Seasonal cycling in the gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers of Tanzania. *Science* **357**, 802–806 (2017).

Soto-Vaca, A.; Gutierrez, A.; Losso, J.N.; Xu, Z.; Finley, J.W. Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *J. Agric. Food Chem.* **60**, 6658–6677 (2012).

Spady DK, Woollett LA, Dietschy JM. Regulation of plasma LDLcholesterol levels by dietary cholesterol and fatty acids. *Annu Rev Nutr.* **81**, 13-355 (1993).

Stamler J, Daviglius ML, Garside DB, Dyer AR, Greenland P, Neaton JD. Relationship of baseline serum cholesterol levels in 3 large cohorts of younger men to long-term coronary, cardiovascular, and all-cause mortality and to longevity. *JAMA* **8**, 284-311 (2000).

Sonnenburg, E. D. et al. Diet- induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature* **529**, 212–215 (2016).

Sousa T, Paterson R, Moore V, Carlsson A, Abrahamsson B, Basit AW. The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs. *Int J Pharm.* **363**, 1–25 (2008).

Stephen, A.M.; Cummings, J.H. Mechanism of action of dietary fiber in the human colon. *Nature* **284**, 283–284 (1980).

Suez J, Korem T, Zeevi D, Zilberman-Schapira G, Thaiss CA, Maza O, et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature* **6**, 514-181 (2014).

Świątecka D, Dominika Ś, Narbad A, Arjan N, Ridgway KP, Karyn RP, et al. The study on the impact of glycosylated pea proteins on human intestinal bacteria. *Int J Food Microbiol.* **72**, 145-267 (2011).

Tanaka, M.; Nakayama, J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol. Int.* **66**, 515–522 (2017).

Toward,R.,Montandon,S.,Walton,G.,andGibson,G.R. Effect of prebiotics on the human gut microbiota of elderly persons. *GutMicrobes* **3**, 57–60 (2012).

Voreades N, Kozil A and Weir TL Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Front. Microbiol.* **5**, 494 (2014).

World Cancer Research Fund. *Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Colon Cancer: A Global Perspective*; American Institute for Cancer Research: Washington, DC, USA, 2007.

Wu GD, Compher C, Chen EZ, Smith SA, Shah RD, Bittinger K, et al. Comparative metabolomics in vegans and omnivores reveal constraints on diet-dependent gut microbiota metabolite production. *Gut* **65(1)**, 63-72 (2016).

Yatsunenko, T. et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* **486**, 222–227 (2012).

Zimmer J, Lange B, Frick JS, Sauer H, Zimmermann K, Schwartz A, et al. A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *European Journal of Clinical Nutrition* **66**, 53–60 (2012).

Zmora, N., Suez, J. & Elinav, E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **16**, 35–56 (2019).

Zsivkovits, M. et al. Prevention of heterocyclic amine-induced DNA damage in colon and liver of rats by different lactobacillus strains. *Carcinogenesis* **24**, 1913–1918 (2003).

12. Životopis

Rođena sam 31.5.2000. godine u Bjelovaru gdje sam završila osnovno školsko obrazovanje. Pohađala sam Opću gimnaziju u Bjelovaru i maturirala 2019. godine sa odličnim uspjehom te iste godine upisala Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu smjer biologija. Sudjelovala sam u projektu Bolder te odradila laboratorijsku stručnu praksu na Institutu Ruđer Bošković (IRB) pod vodstvom dr.sc. Snježane Mihaljević. Govorim engleski i njemački jezik.