

# Uloga crijevne mikrobiote i prehrane u patogenezi Alzheimerove bolesti

---

**Martinović, Klara**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2020**

*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:217:064577>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-09**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**ULOGA CRIJEVNE MIKROBIOTE I PREHRANE U PATOGENEZI  
ALZHEIMEROVE BOLESTI**

**ROLE OF GUT MICROBIOTA AND NUTRITION IN  
PATHOGENESIS OF ALZHEIMER DISEASE**

**SEMINARSKI RAD**

Klara Martinović

Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: prof. dr. sr. Nada Oršolić

Zagreb, 2020.

## SADRŽAJ

1. Uvod .....	3
2. Patogeneza Alzheimerove bolesti.....	4
2.1. $\beta$ -amiloidni plakovi .....	4
2.2. Neurofibrilarni čvorovi .....	6
2.3. Oksidacijski stres.....	8
2.4. Neuroupala i aktivirane glija stanice.....	8
2.5. Genetička podloga.....	10
3. Os crijeva-mozak.....	10
3.1. Crijevna i krvno-moždana barijera.....	12
3.2. Glutaminergična disfunkcija .....	13
3.3. Kratkolančane masne kiseline (SCFA) .....	14
4. Bakterijski amiloidi .....	14
5. Uloga prehrane i nutrijenata na razvoj amiloida .....	15
5.1. Probiotici .....	18
6. Sažetak.....	19
7. Summary.....	21
8. Literatura .....	23

## 1. Uvod

Crijevna mikrobiota je ekosustav koji se sastoji pretežito od bakterija, koje su većinom striktni anaerobi, ali i gljiva, virusa, protoza i arheja. Ima temeljnu ulogu u održavanju zdravlja domaćina kao i u modulaciji dvosmjernog signaliziranja u osi crijeva-mozak. Gastrointestinalni sustav je dom za više od  $10^{14}$  mikroorganizama uključujući najmanje 1000 različitih vrsta bakterija. Crijevna mikrobiota odrasle osobe sastoji se od 4 glavna reda *Bacteroidetes* (~48%) i *Firmicutes* (~51%) te u malom broju (~1%) *Proteobacteria* i *Actinobacteria*. Dokazano je kako disbioza (neravnoteža crijevne mikrobiote) doprinose razvoju raznih bolesti kod čovjeka, uključujući upalne bolest crijeva, dijabetes tipa II, metabolički sindrom, pretilost, alergije, kolorektalni tumor, ali i neurodegenerativne bolesti kao što su Parkinsonova i Alzheimerova bolest te depresija. Mikrobiom je dinamičan entitet osjetljiv na niz promjena, a crijevni mikrobiom evoluira čitavog života pa tako disbiozu mogu uzrokovati loše životne navike i okolišni čimbenici, izlaganje antibioticima ili infekcije patogenima koje dovode do gubitka homeostaze. Promjene crijevnog mikrobioma mogu aktivirati upalni odgovor povećavajući proizvodnju proupalnih citokina i permeabilnosti epitela crijeva, ali i drugih tkiva i organa kao što je mozak. Poznato je kako bakterije koje su u sastavu crijevnog mikrobioma izlučuju imunogene komponente amiloida, lipopolisaharida i drugih bakterijskih izlučevina u svoj okoliš, a tijekom disbioze i u povišenim koncentracijama pa tako mogu aktivirati signalne putove koji su važni u neurodegeneraciji i patogenezi Alzheimerove bolesti. Smatra se kako pojedini nutrijenti i probiotici imaju modulatornu funkciju na sastav crijevne mikrobiote i tako pozitivno reguliraju upalne procese povezane sa stvaranjem  $\beta$ -amiloidnih plakova (Moloney i sur. 2013; Hill i sur. 2014; Pistollato i sur. 2016; Giau i sur. 2018; Syeda i sur. 2018; Luca i sur. 2019 ). Cilj ovog rada je objasniti ulogu i značaj prehrane na sastav crijevne mikrobiote te njihovu poveznicu s patogeneom Alzheimerove bolesti.

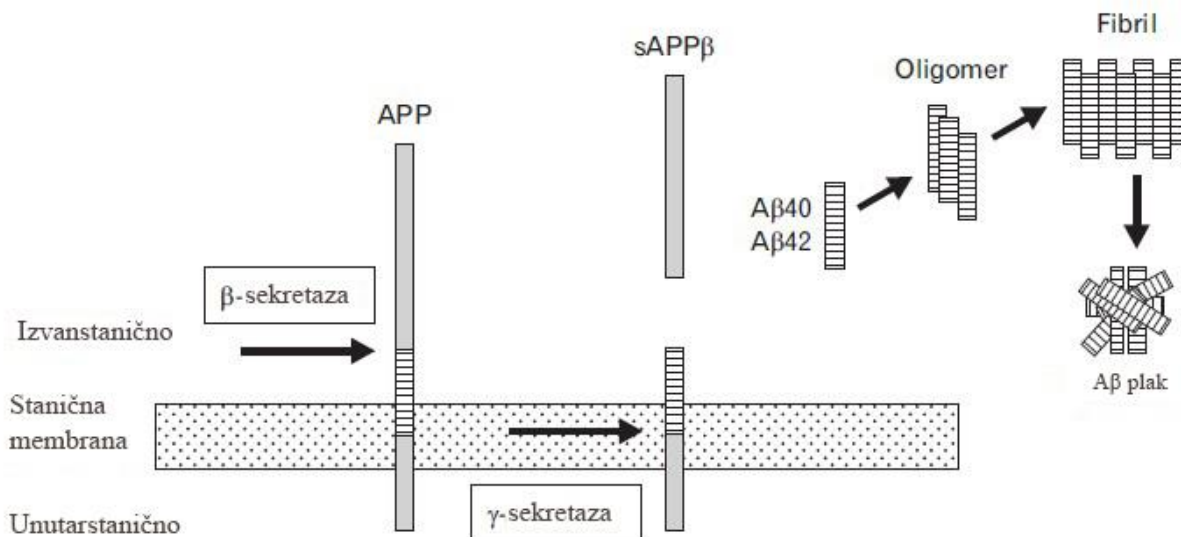
## 2. Patogeneza Alzheimerove bolesti

Alzheimerova bolest (AB) je neurodegenerativna bolest koju karakterizira gubitak živčanih stanica i sinapsi u moždanoj kori i kao posljedica dolazi do atrofije mozga i progresivne demencije te smanjenja kognitivnih funkcija (Damjanov i sur. 2018; Angelucci i sur. 2019). Primarno se pojavljuje kod starije populacije te se s povećanjem životne dobi povećava prevalencija bolesti pa je tako među šezdesetogodišnjacima prisutno 1% oboljelih, dok je kod osoba dobi iznad 85. godina prevalencija bolesti 30% (Blennow i sur. 2006; Guyton i Hall 2012; Jia i sur. 2019). Alzheimerova bolest je češće prisutna kod žena, a s obzirom na pojavnost prvih simptoma dijeli se na AB s ranim početkom, najčešće između 30. i 60. godine života (engl. *familial Alzheimer disease*, FAD) i AB s kasnim početkom, nakon 65. godine (engl. *late-onset Alzheimer disease*, LOAD) (Damjanov i sur. 2018; Seo i Holtzman 2019). Glavna patološka karakteristika bolesti je prekomjerno nakupljanje  $\beta$ -amiloidnih peptida i njihovo taloženje u izvanstanične nakupine  $\beta$ -amiloidne plakove te nastanak unutarstaničnih neurofibrilarnih čvorova (NFTs) koje tvore hiperfosforilirani tau proteini (Giau i sur. 2018; Jia i sur. 2019).

### 2.1. $\beta$ -amiloidni plakovi

U mehanizmu nastanka bolesti s ranim početkom glavnu ulogu imaju mutacije u genima APP, PSEN1 i PSEN2. Ti geni kodiraju za amiloid prekursorski protein, protein presenilin 1 i presenilin 2. Kod zdravih osoba protein presenilin 1 djeluje kao katalitička podjedinica  $\gamma$ -sekretaza kompleksa. To je intramembranska proteaza koja cijepa brojne transmembranske glikoproteine tipa I pa tako i amiloid prekursorski protein (APP). Cijepanjem APP-a nastaju polipeptidi ( $A\beta$ ) od 39-43 aminokiseline, a među njima su najvažniji topivi oblik  $\beta$ -amiloidnih proteina ( $A\beta_{40}$ ) koji nastaje u ~90% slučajeva i u manjini (~10%) hidrofobniji oblik  $A\beta_{42}$  koji je netopiv i toksičan te agregira i tako stvara amiloidni plak. Smatra se da mutacije u genu PSEN1 uzrokuju povećanu proizvodnju agregata pogrešno smotanog  $A\beta_{42}$  peptida inducirajući patogenezu bolesti (Qiu 2015; Kellher i Shen 2017; Damjanov i sur. 2018; Garcez i sur. 2019). U uvjetima niske koncentracije kolesterola cijepanju  $\gamma$ -sekretazom prethodi cijepanje APP-a  $\alpha$ -sekretazom čime se potiče neamiloidogeni put razgradnje. U slučaju povišene koncentracije kolesterola umjesto cijepanjem  $\alpha$ -sekretazom pozitivno se regulira cijepanje  $\beta$ -sekretazom koja proizvodi  $A\beta$  sklone agregiranju, prikazano na Slici 1 (Yiannopoulou i Papageorgiou 2013; Jia i sur. 2019).  $A\beta_{42}$  peptidi mogu

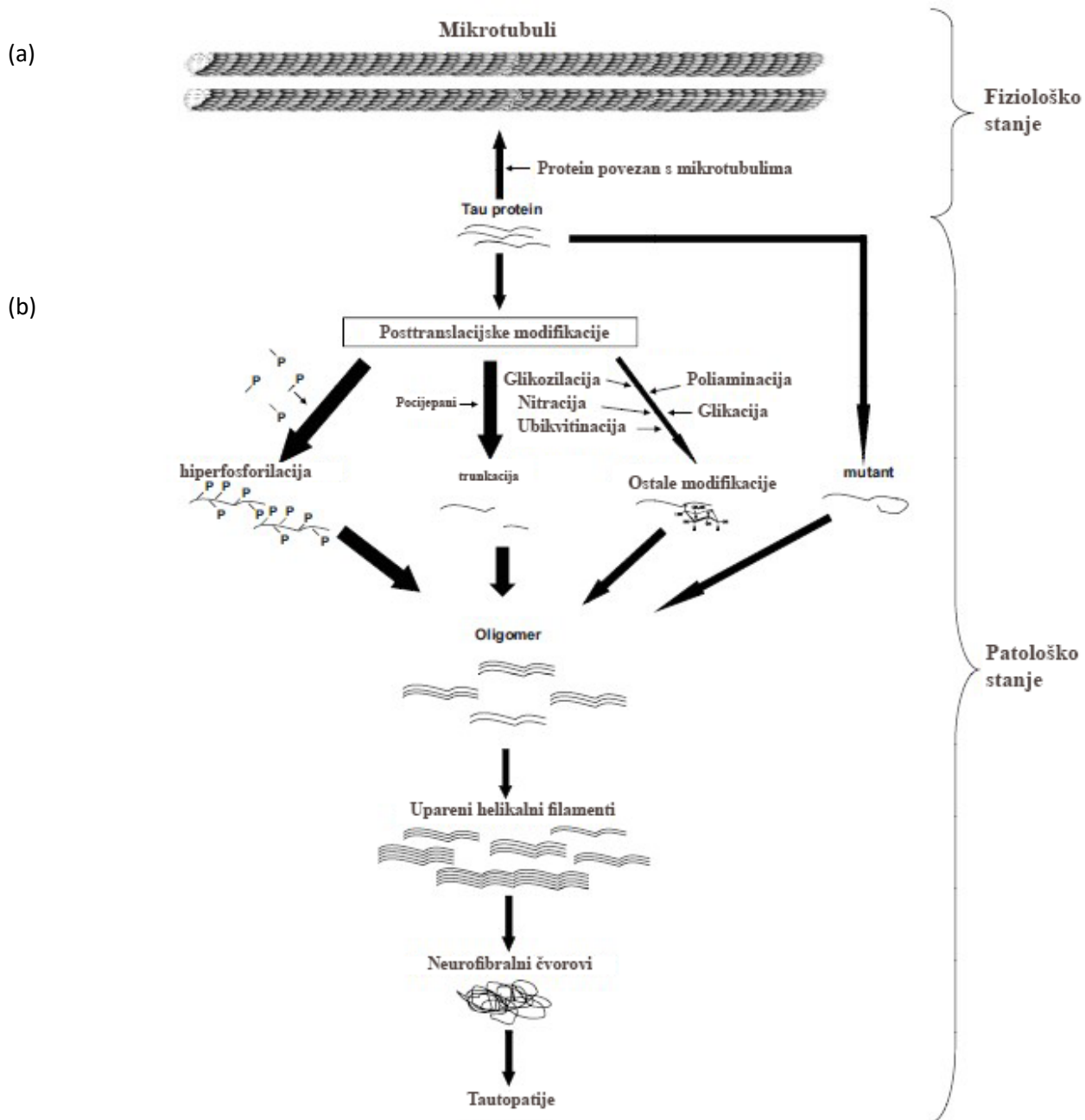
agregirati u formi oligomera, protofibrila i fibrila koji se talože u plakove, a intermedijerne forme su najviše toksične. Monomerne i oligomerne forme A $\beta$ 40 i 42 ponašaju se kao klice koje potiču samo-propagaciju i ubrzavaju proces agregacije proteina (Kowalski i Mulak 2019). Ovakvi agregati uglavnom su prisutni u dijelovima mozga koji su odgovorni za kognitivne funkcije, to su primjerice cerebralni korteks, hipokampus, entorinalni korteks i ventralni striatum (Selkoe 2008). U mozgu su prisutni gusto nataloženi agregati A $\beta$  peptida, ali i difuzni depoziti amiloida (Groen i sur. 2006).



**Slika 1.** Formiranje  $\beta$ -amiloidnog (A $\beta$ ) plaka cijepanjem amiloid prekursorškog proteina (APP). U cijepanje su uključena 2 enzima:  $\beta$ -sekretaza i  $\gamma$ -sekretaza.  $\beta$ -sekretaza cijepa APP u izvanstaničnom prostoru, dok  $\gamma$ -sekretaza cijepa APP unutar stanične membrane. Nastali nesmotani proteini A $\beta$ 40 i A $\beta$ 42 djeluju kao klice koje ubrzavaju agregaciju proteina u oligomere, fibrile i amiloidne plakove (Preuzeto i prilagođeno prema Kowalski i Mulak, 2019).

## 2.2. Neurofibrilarni čvorovi

Tau protein spada u obitelj proteina vezanih uz mikrotubule (engl. *microtubule-associated protein*, MAP) koji u normalnim uvjetima služe u sastavljanju i stabilizaciji mikrotubula koji su uključeni u aksonski prijenos i u živčano grananje (engl. *neurite outgrowth*) (Slika 2a). Ravnoteža između fosforilacije i defosforilacije tau proteina održava stabilnost citoskeleta. Ovisno o načinu cijepanja, tau protein može postojati u šest izoformi koje sadrže između 352 i 441 aminokiselina i različito su eksprimirani tijekom razvoja neurona. Tau je hidrofilni kationski protein koji je u nativnim uvjetima nesmotan, a njegove uobičajene funkcije su regulirane fosforilacijom, glikozilacijom, ubikvitinacijom, skraćivanjem i nitracijom. Na posebnim aminokiselinskim ostacima u tau proteinu može doći do abnormalne fosforilacije, primjerice hiperfosforilirani mogu biti: Ser202, Thr205, Ser235, Ser404 i drugi Neurofibrilarni čvorovi (NFTs) su prema svojoj prirodi također amiloidi (agregati) odnosno kompaktna filamentozna mreža koju formiraju upareni spiralni filamenti (PHF) kojima su glavna komponenta hiperfosforilirani citoskeletni tau proteini koji potiču vlastitu agregaciju (Slika 2b). NFTs se uglavnom nalaze u hipokampusu, entorinalnom korteksu i amigdali, a za neurone su toksični ili zbog neispravne signalizacije ili zbog ometanja staničnih funkcija. Kod AB-i akumulacija hiperfosforiliranih tau proteina u NFTs je u korelaciji s progresijom i težinom bolesti te kognitivnim oštećenjem. Dvije su glavne proteinske kinaze koje vrše ove posttranslacijske modifikacije: ciklin ovisna kinaza (Cdk5) i glikogen sintaza kinaza-3 beta (GSK-3 $\beta$ ). Navedene kinaze vode do strukturnih i konformacijskih promjena proteina i tako cijepanjem utječu na kapacitet vezanja tau proteina za tubulin i sastavljanje mikrotubula. Cdk5 ima ključnu ulogu u razvoju mozga i povezana je s neurogenezom. Deregulacija ove protein kinaze, koja je inducirana vanstaničnim nakupljanjem amiloida, uzrokuje hiperfosforilaciju tau proteina. Hiperfosforilacija tau proteina potiče niz molekularnih događaja koji vode do neuralne (neurofibrilarne) degeneracije. Osim senilnih plakova, za aktivaciju Cdk5 protein kinaze zaslužno je i cijepanje p35, koji formira aktivni kompleks s Cdk5, na p25 aktivator koji se oslobađa. Osim posttranslacijskih promjena pretpostavlja se da uzrok agregaciji tau proteina mogu biti i mutacije. Pronađeno je više od 30 mutacija za koje se pretpostavlja da urokuju agregaciju; one su ili egzonske pa uzrokuju promjenu u primarnoj strukturi proteina, ili intronske pa utječu na pogrešno izrezivanje proteina (Maccioni i sur. 2001; Blennow i sur. 2006; Farías i sur. 2011; Raggiacci 2015).



**Slika 2.** Poveznica između posttranslacijskih modifikacija i agregacije nepravilnih tau proteina. U fiziološkim uvjetima glavna je funkcija tau proteina stabilizacija mikrotubula (a), dok u patološkim uvjetima prilikom mutacije i posstranlacijske modifikacije tau proteini postaju toksični NFTs (b) (Preuzeto i prilagođeno prema Farias i sur. 2011).



### 2.3. Oksidacijski stres

Jedan od ključnih patogenih mehanizama u AB-u je oksidacijski stres. To je stanje koje se javlja kada stvaranje reaktivnih kisikovih vrsta nadilazi kapacitet postojećih endogenih antioksidansa što uzrokuje oksidativna oštećenja tkiva (Burton i Jauniaux 2011). Dakle, takvo stanje može biti posljedica povećane proizvodnje oksidansa ili smanjenja koncentracije antioksidansa u stanici kao što su glutation, vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), askorbat, sustav glutation peroksidaza, superoksid dismutaza (SOD) i katalaza (Maccioni i sur. 2001). Umjerena razina reaktivnih kisikovih vrsta (ROS-a) ima antimikrobni učinak, a produciraju ih fagociti domaćina u odgovoru na patogene. Poveća li se koncentracija reaktivnih kisikovih i dušikovih vrsta, primjerice superoksida, vodikovog peroksida, dušikovog oksida i peroksinitrita, dolazi do oštećenja stanica i signaliziranja za apoptozu što vodi do oštećenja epitela i upale.  $A\beta$  potiču stvaranje visoke količine kisikovih i dušikovih reaktivnih vrsta te smanjenje endogenih antioksidansa. Ove molekule potiču niz reakcija između radikala i drugih biomolekula i tako zauzimaju glavnu ulogu u oštećivanju neurona. U *in vitro* uvjetima, ali i kod AB pacijenata antioksidansi kao vitamin E, idebenon, mokraćna kiselina, glutation i prirodni polifenoli učinkoviti su u prevenciji neurotoksičnosti  $A\beta$ . Slobodni radikali djeluju i tako što induciraju masivno otpuštanje kalcija u živčane stanice. U prisutnosti metala koji se nalaze u senilnim plakovima (poput bakra, cinka i željeza) vodikov peroksid u Fenton reakciji proizvodi vodikov radikal koji je jaki oksidans i citotoksin (Maccioni i sur. 2001; Fox i sur. 2019). Oksidacijski stres može se povezati i s alelom  $\epsilon 4$  za apolipoprotein E koji je najmanje učinkovit u obrani od toksičnosti oksidansa pa se APOE4 može povezati s većim oksidacijskim oštećenjima (Fox i sur. 2019).

### 2.4. Neuroupala i aktivirane glija stanice

Neuroupala može biti potaknuta ili perifernom upalom ili translociranjem mikroba preko permeabilne krvno-moždane barijere (BBB). Sistemska upala može povećati permeabilnost BBB-a zbog čega mozak postaje izložen citokinima koji vode do neuroupale. Pretjerano izlaganje mikroglija upalnim citokinima smanjuje njihovu sposobnost uklanjanja  $A\beta$  pa zbog smanjenog kapaciteta remodeliranja sinapsi dolazi do nepovratnog živčanog oštećenja. Neuroupala je rana pojava u patogenezi Alzheimerove bolesti, a pojavljuje se prije akumulacije amiloida (Fox i sur. 2019) aktivacijom mikroglija, reaktivnih astrocita i komplementa (Kowalski i Mulak 2019).

Prisutnost aktivira njih mikroglija stanica je najprepoznatljivija značajka upale u mozgu oboljelih od AB (Maccioni i sur. 2001). Agregati A $\beta$ 42 i neurofibrilarni čvorovi aktiviraju imunosni odgovor posredovan mikroglija stanicama koji u fiziološkim uvjetima omogućavaju uklanjanje A $\beta$ . Oligomerizacijom se značajno povećava zadržavanje amiloida pa kao posljedica progresivnog taloženja A $\beta$  plakova neizbježna je disfunkcija sinapsi, smrt i upala neurona te oksidacijski stres (Luca i sur. 2019; Kowalski i Mulak 2019). Crijevna mikrobiota utječe na mikroglija stanice, homeostaza mikrobiote je održana prisutnošću bakterije koje proizvode kratkolančane masne kiseline (Fox i sur 2019). Aktivirane mikroglija stanice proizvode kemotaktične čimbenike, koji dodatno potiču aktivaciju mikroglija, i aktivaciju komponenti komplementa koji uzrokuju direktnu citotoksičnost. Na aktivaciju kaskade komplementa utječu i A $\beta$  koji mogu aktivirati C1q komponentu komplementa, te posljedično dovesti do kompleksa koji napada membranu (MAC) vodeći oštećenju neurona gubitku sinapsi kod AB pacijenata. Mikroglija i astroglia proizvode brojne citokine i kemokine (IL-1 $\beta$ , IL-6 i TNF- $\alpha$ ) koji su povezani s upalnim reakcijama a njihova prisutnost je povećana kod mozga oboljelog od AB. Aktivirane mikroglija stanice proizvode i velike količine dušikovog oksida (NO), koji je sam po sebi slabo reaktivan slobodni radikal i služi kao prenositelj informacija u mnogim biološkim sustavima, te superoksida. Kombinacijom nastaje peroksinitrit koji je snažan i toksičan oksidans i reagira s velikim dijelom komponenata stanice (tiolima, tiolnim esterima, cinkovim prstima, itd.) inicira peroksidaciju lipida, ali i stvaranje nitrotirozina. Aktivirani astrociti i mikroglija stanice okružuju  $\beta$ -amiloidne plakove, a neurotoksičnosti doprinose inducirajući upalne medijatore (IL-1 $\beta$  i TNF $\alpha$ ) koji potiču ekspresiju upalnog enzima inducibilne sintaze dušikovog oksida (iNOS). Astrociti su populacija stanica u CŽS koje međudjeluju sa neuronima u vanstaničnom prostoru kako bi osigurale strukturalnu, metaboličku i trofičku potporu, ali i kroz kontrolu razine iona i neurotransmitera, regulirale ekscitabilnost i neuroprijenos. Astrociti imaju sposobnost odgovoriti na blagi oksidacijski stres i zaštititi neurone od ROS-a, no porastom upalnih medijatora i oksidacijskih oštećenja dolazi do slabljenja propusnih veza među astrocitima pa se sprječava prijenos kalcija i puferiranje ostalih iona što indirektno mijenja ekcitaciju neurona (Maccioni i sur. 2001; Rigacci 2015; Kowalski i Mulak 2019).

## 2.5. Genetička podloga

Rana pojavnost AB-a kod osoba oboljelih od Downovog sindroma posljedica je smještaja gena, koji kodira za APP, na 21. kromosomu čime zbog trisomije odnosno prekomjerne ekspresije APP gena, dolazi do ubrzanog nastanka A $\beta$ . Za razvoj AB-a s kasnim početkom, osim godina, rizik predstavljaju i genetički čimbenici, a posebice gen *APOE* koji kodira za apolipoprotein E (APOE) i nalazi se na 19. kromosomu. APOE većinom je eksprimiran u astrocitima, ali i u mikroglia stanicama tijekom upale, a djeluje kao nosač kolesterola u mozgu. Kad je vezan za kolesterol APOE može vezanjem za neuralne receptore potaknuti rast neurona i sinapsi. Gen *APOE* postoji u 3 varijante  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  i  $\epsilon 4$  koje se međusobno razlikuju u jednoj aminokiselini. Ovi aleli nose različiti rizik za razvoj AB-a, te je  $\epsilon 4$  najrizičniji oblik povezan s niskom koncentracijom APOE proteina djelomično zbog brze razgradnje, dok se  $\epsilon 2$  povezuje sa smanjenjem rizika. *APOE*  $\epsilon 4$  kod heterozigota povećava rizik za nastanak AB-a s kasnim početkom 3 puta, dok kod homozigota 15 puta, a smatra se da pridonosi odlaganju  $\beta$ -amiloida u moždanom tkivu tako što promovira fibrilizaciju A $\beta$  i formiranje plakova vežući se za njih. Generalno APOE je protuupalna molekula, no APOE4 ima najslabija protuupalna svojstva, pa su vrste koje nose alel  $\epsilon 4$  najizloženije upali i upalnim oštećenjima. Kod AB-a s ranim početkom genetičku podlogu za razvoj bolesti predstavljaju mutacije u genima za APP, presenilin 1 i presenilin 2 kao što je već spomenuto ranije (Blennov i sur. 2006; Sardi i sur. 2011; Damjanov i sur. 2018; Fox i sur. 2019; Nagpal i sur. 2019; Seo i Holtzman 2019).

## 3. Os crijeva-mozak

Koncept os crijeva-mozak predstavlja dvosmjernu komunikaciju između centralnog živčanog sustava (CŽS) i gastrointestinalnog sustava koji uključuje višestruko preklapanje signalnih puteva u koje spadaju autonomni, neuroendokrini i imunski sustav kao i metaboliti bakterija te neuromodulatorne molekule. Dvosmjerna komunikacija predstavlja aferentni i eferentni autonomni signalni put koji povezuje CŽS sa enteričkim živčanim sustavom preko vagusa, mišićnim slojem u crijevu i crijevnom mukozom i tako modulira permeabilnost, sekreciju mukoze, pokretljivost i imunitet (Saulnier i sur. 2013; Moloney i sur. 2014; Pistollato i sur. 2016; Luca i sur. 2019; ). Nakon obroka bogatog mastima i ugljikohidratima specijalizirane enteroendokrine stanice u crijevima luče medijatore koji prenose signale putem živca vagusa iz crijeva do mozga.

Ti medijatori su hormoni i peptidi s različitim funkcijama pa tako primjerice glukagonu-nalik peptid-1 (GLP-1) i peptid YY (PYY) sprječavaju peristaltiku crijeva i pomažu metabolizam glukoze utišavajući rezistenciju na inzulin (Luca i sur. 2019). Na sličan način i crijevna mikrobiota može utjecati na signalizaciju tako što proizvodi medijatore pa se ovaj signalni put može još nazvati i os mikrobiota-crijeva-mozak. Osim lokalne i sistemske upale posredovane lipopolisaharidima i proizvodnjom proupalnih citokina, mikroorganizmi mogu proizvoditi i neurotransmitere i neuromodule kao što su kratkolančane masne kiseline (SCFAs), biogeni amini (histamin) i druge metabolite izvedene iz aminokiselina kao što su serotonin i  $\gamma$ -aminomaslačna kiselina (GABA). Signalne molekule koje luči crijevna mikrobiota prenose se limfatičkom i sistemskom cirkulacijom do središnjeg živčanog sustava gdje utječu na ponašanje i kognitivne funkcije (Giau i sur. 2018; Kowalski i Mulak 2019). Kratkolančane masne kiseline moduliraju sintezu nekoliko neurotransmitera, primjer su maslačna i propionska kiselina koje pojačavaju aktivnost enzima uključenih u sintezu dopamina, noradrenalina i serotonina. Smatra se da *Escherichia* i *Enterococcus* mogu proizvoditi serotonin i direktno i preko proizvodnje kratkolančanih masnih kiselina. Neke bakterije kao što su *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* mogu direktno proizvesti inhibitorni neurotransmiter kao što je GABA metaboliziranjem glutamata, a *Lactobacillus rhamnosus* može modulirati ekspresiju GABA receptora u mozgu. Promjene u signaliziranju GABA-om su povezane sa kognitivnim oštećenjem, AB-om, anksioznošću i depresijom, dok smanjenje razine kratkolančanih masnih kiselina može negativno utjecati na glukozu u mozgu, energetska homeostazu, imunosti odgovor i rast epitelnih stanica i tako mogu imati učinak na funkcioniranje i centralnog i perifernog živčanog sustava (Bhattacharjee i Lukiw 2013; Moloney i sur. 2013; Pistollato i sur. 2016; Fox i sur. 2019; Luca i sur. 2019;). Bakterijski enzimi mogu sintetizirati i neurotoksine kao što su D-mlječna kiselina i amonijak (Giau i sur. 2018). Vrlo važan je i moždani neurotrofni čimbenik (*engl.* brain-derived neurotrophic factor, BDNF) koji ima pleiotrofni učinak na razvoj neurona, diferencijaciju, stvaranje i plastičnost sinapsi pa tako utječe na kognitivne funkcije. U mozgu i serumu pacijenata oboljelih od AB-a primijećeno je smanjenje BDNF-a, a povezuje se s anksioznim ponašanjem i progresivnim gubitkom kognitivnih funkcija (Bhattacharjee i Lukiw 2013).

### 3.1. Crijevna i krvno-moždana barijera

Kako bi se održalo zdravlje organizma u crijevima čovjeka postoji ravnoteža između imunskog odgovora i populacije naseljenih bakterija koje odvaja epitelni sloj stanica odnosno crijevna barijera. Crijevna barijera predstavlja fizičku barijeru za ulazak malih molekula i mikroba pa omogućava obranu organizma od patogenih bakterija koje šalju signale imunskim stanicama i tako mogu regulirati pro- i anti-upalno stanje (Haran i sur. 2019). Osim epitelnih stanica, crijevnu barijeru sačinjavaju i sloj mukoze, glikokaliks, sekrecijski IgA, antimikrobni peptidi, izlučeni kloridi i voda, ali i normalna crijevna mikrobiota domaćina (Sauliner i sur. 2013). Ova dinamična ravnoteža održava se homeostatskim putevima koji inhibiraju imunski odgovor na dobre bakterije (P-glikoprotein/endokanabinoidna os) i upalnim putevima koji aktiviraju odgovor na patogene ili neispravne signale (protein otpornosti na više lijekova 2 (MRP2)/hepoksilin A<sub>3</sub>) (Szabady i sur. 2018). Prema fekalnim uzorcima pacijenata oboljelih od AB-a u usporedbi sa zdravim starim osobama inducirana je smanjena ekspresija P-glikoprotein (P-gp) što korelira s upalom u gastrointestinalnom sustavu, dok je MRP2 put aktiviran kod kroničnih crijevnih upala. Ekspresija P-gp usko je povezana sa sastavom mikrobiote, uglavnom s onim bakterijama koje proizvode butirat ili maslačnu kiselinu (Haran i sur. 2019).

Krvno-moždanu barijeru formiraju endotelne stanice mozga, a periciti odvajaju CŽS od molekula koje putuju krvlju, patogena i stanica. Dotok topivih  $\beta$ -amiloida u mozak preko krvno-moždane barijere (BBB) posredovan je receptorom za krajnje produkte uznapredovale glikoksidacije (RAGE, engl. *receptor for advanced glycation endproducts*) i ovisan o šaperonima i apolipoproteinima E i J, dok u eliminaciji  $\beta$ -amiloida glavnu ulogu imaju P-gp i LDL receptor-ovisan protein 1 (LRP1). Ovi mehanizmi prijenosa promijenjeni su kod pacijenata oboljelih od Alzheimerove bolesti pa oslabljeno uklanjanje A $\beta$  preko BBB-a uvelike doprinosi stvaranju A $\beta$  plakova u mozgu i tako napredovanju AB-a (Maccioni i sur. 2001; Pistollato i sur. 2016; Kowalski i Mulak 2019). Tijekom normalnog starenja opada razina P-gp i LRP1 u krvno-moždanoj barijeri što je u pozitivnoj korelaciji s akumulacijom A $\beta$  kod AB-a (Abuznait i sur. 2013). Analizom mozga živog čovjeka dokazana je i ovisnost propadanja BBB-a o godinama. Propadanje korelira sa oštećenjima pericita koja su dodatno ubrana zbog alela  $\epsilon$ 4 za APOE gen (Kowalski i Mulak 2019). Do smrti neurona u AB-u dolazi zbog apoptoze i nekroze, dok je apoptoza posredovana kaspazom, kod nekroze A $\beta$  peptidi induciraju oštećenja slobodnim radikalima i promjenama u homeostazi

unutarstaničnog kalcija pa dolazi do oticanja stanica i gubitka cjelovitosti plazmatske membrane (Maccioni i sur. 2001). Dakle, i crijevna i krvno-moždana barijera s godinama postaju permeabilnije pa se zbog gubitka cjelovitosti nakupljeni neurotoksini mikrobioma i patogeni dopremaju do CŽS i mogu dospjeti u cerebrospinalnu tekućinu (Sardi i sur. 2011.; Hill i sur. 2014).

### 3.2. Glutaminergična disfunkcija

Vrlo rano u razvoju AB-a, prije nego je primjetno smanjenje kognitivnih sposobnosti pacijenta, zamijećena je glutaminergična disfunkcija. Glutamat je jedan od najzastupljenijih ekscitacijskih neurotransmitera i doprinosi funkcijama mozga kao što su učenje i stvaranje memorije kroz dugotrajno potenciranje (LTP). Prekomjerno oslobađanje glutamata može biti toksično za mozak i vezano je za mnoge neurodegenerativne bolesti. Povišena izvanstanična koncentracija glutamata uzrokuje staničnu smrt pretjeranom aktivacijom *N*-metil-D-aspartat (NMDA) receptora koja se naziva glutaminergična ekscitotoksičnost. Prekomjernom stimulacijom receptora potiče se stvaranje reaktivnih kisikovih i dušikovih vrsta koje uzrokuju oksidacijski stres, no glutamat indirektno utječe na stvaranje reaktivnih vrsta i drugim mehanizmima tako što značajno smanjuje razine glutationa u astrocitima, oligodendrocitima i neuronima. Aktivacijom putem glutamata potiče se masivni ulazak kalcija putem NMDA ovisnih kanala, a kao posljedica potiču se mehanizmi apoptoze. Poznato je kako crijevne cijanobakterije proizvode neproteinogene aminokiseline, primjerice  $\beta$ -*N*-metilamino-L-alanin, koji djeluje kao neurotoksin, izazivajući ekscitotoksičnost tako što interagira s NMDA glutamatnim receptorom. Razina  $\beta$ -*N*-metilamino-L-alanina povišena je u osoba oboljelih od AB pa je NMDA signalizacija narušena kod AB pacijenata (Maccioni i sur. 2001; Bhattacharjee i Lukiw 2013; Pistollato i sur. 2016; Garcez i sur. 2019; Li i sur. 2019). Dakle, prekomjerna NMDAR signalizacija uzrokuje neurotoksičnost, no nedovoljno sinaptičko NMDAR signaliziranje može narušiti stanično preživljenje neurona. Bakterije koje su u sastavu crijevne mikrobiote, kao što su *Bacteroides vulgatus* i *Campylobacter jejuni*, utječu na metabolizam glutamata i smanjuju količinu glutamatnog metabolita 2-keto-glutamatne kiseline, dok druge bakterije koje imaju enzim glutamat racemazu, kao što su *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium lactoferatum* ili *Brevibacterium avium* mogu pretvoriti L-glutamat u D-glutamat. S obzirom na to da je glutamat agonist NMDAR-a i da ima utjecaj na kognitivne funkcije pacijenata s demencijom, vrlo je važan sastav crijevne mikrobiote (Chang i sur. 2020).

### 3.3. Kratkolančane masne kiseline (SCFA)

Crijevna mikrobiota fermentira neprobavljive sastavnice prehrane (polisaharide) i kao glavni produkti nastaju kratkolančane masne kiseline (SCFAs) u koje se ubrajaju acetat, propionat i butirat (Bienenstock i sur. 2015; Canfora i sur. 2015). Smanjenje razine kratkolančanih masnih kiselina doprinosi nastanku dijareje zbog reducirane apsorpcije natrija i vode, gdje je kao posljedica spriječen ponovni rast dobrih mikroba zbog čega se odgađa uspostavljanje zdravog profila mikrobiote. Poznat je protuupalan učinak butirata pa smanjenje broja bakterija koje proizvode butirat doprinosi razvoju prekomjerne upale (Greiner i sur. 2014). Analizom je dokazana poveznica između sastava crijevne mikrobiote i alela za apolipoprotein E, gdje nosioci *APOE4* alela imaju smanjenu prisutnost *Ruminococcaceae* bakterija koje proizvode SCFAs. Obzirom da SCFAs kao butirat ima važnu ulogu u održavanju cjelovitosti crijevne barijere postoji mogućnost da su nositelji *APOE4* više izloženi narušavanju crijevne barijere i permeabilnosti (Seo i Holtzman 2019). Butirat je esencijalni metabolit u ljudskom kolonu i preferirani izvor energije epitelnih stanica kolona. Testiranjem fekalnih uzoraka primijećeno je kako mikrobiom starijih osoba oboljeli od AB-i pokazuje manju prevalenciju bakterija koje proizvode butirat, ali i veću gustoću onih taksona koji uzrokuju proupalno stanje (Haran i sur. 2019).

## 4. Bakterijski amiloidi

Crijevna mikrobiota (neke bakterije i gljive) proizvodi značajnu količinu amiloida. Neke od bakterijskih vrsta za koje je poznato da proizvode izvanstanična amiloidna vlakna su: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium tuberculosis* i *Staphylococcus aureus* (Giau i sur. 2018). Amiloidni proteini omogućavaju međusobno povezivanje bakterija stvarajući biofilm i okoliš otporan na uništavanje fizikalnim i imunskim faktorima domaćina, imaju ulogu u staničnoj adaptaciji, stimuliraju adheziju, invaziju tkiva, kolonizaciju bakterijama i infekciju patogenima. Bakterijski amiloidi razlikuju se u primarnoj strukturi u odnosu na amiloide centralnog živčanog sustava, ali dijele zajedničke karakteristike u tercijarnoj strukturi. Kao posljedica tih sličnosti, izlaganje bakterijskim amiloidima u crijevima može uzrokovati priming odnosno prvi doticaj T-limfocita s antigenom zbog toga se pojačava imunski odgovor na endogeno proizvedene amiloide u mozgu. Zajedničke osobine bioloških struktura koje su razvijene kao odgovor na evolucijski pritisak odgovaraju konceptu molekularne

mimikrije (Pistollato i sur. 2016; Fox i sur. 2019; Kowalski i Mulak 2019). Curli su izvanstanični bakterijski amiloid kojeg proizvodi *E. coli*. Eksperimentalno je dokazano kako izlaganje bakterijama, koje proizvode curli, uzrokuje povećano taloženje neuralnog alfa-sinukleina ( $\alpha$ -syn) i u crijevima i u mozgu životinja, ali i pojačanu mikrogliozu i astrogliozu. U mozgu eksperimentalnih životinja izloženih bakterijama koje proizvode curli pojavljuje se povećana ekspresija TLR2, IL-6 i TNF, što rezultira neuroupalom. Kroz molekularnu mimikriju, bakterijski amiloidi mogu biti nalik prionskim proteinima i izazvati križnu inicijaciju agregiranja (engl. cross-seeding), tj. jedan amiloidni protein (curli, tau, A $\beta$ ,  $\alpha$ -syn ili prion) uzrokuje da neki drugi protein domaćina, koji ima različitu primarnu strukturu, poprimi patogenu strukturu  $\beta$ -ploče (Bostancikliglu 2019; Jia i sur. 2019; Kowalski i Mulak 2019). Starenjem, epitel gastrointestinalnog sustava i krvno-moždana barijera postaju permeabilniji za male molekule, a tome dodatno pomažu bakterijski amiloidi zbog čega se bakterijski metaboliti mogu translocirati u organizmu. Prelaskom preko narušene crijevne membrane, bakterijski amiloidi potiču agregiranje A $\beta$  i započinju niz imunskih odgovora kroz povišenje razine NF- $\kappa$ B i iNOS (Bostancikliglu 2019).

## **5. Uloga prehrane i nutrijenata na razvoj amiloida**

Prehrana je značajan modulator zdravlja mozga, ali i jedan od glavnih modulatora crijevne mikrobiote. Ketogenu prehranu karakterizira smanjeni unos ugljikohidrata i povećani unos visokomasnih namirnica, koje mogu utjecati na agregaciju amiloida i hiperfosforilaciju tau proteina (Nagpal i sur. 2019). U istraživanju provedenom na štakorima pokazano je kako bioaktivna hrana može modificirati crijevnu mikrobiotu tako što obnavlja razinu glukoze, može smanjiti oksidacijski stres u jetri i mozgu, smanjiti neuroupalu i poboljšati kognitivne sposobnosti (Syeda i sur. 2018). Prehrana s malim unosom namirnica biljnog podrijetla povezana je s rizikom nastanka bolesti kao što su dijabetes tipa II, metabolički sindrom, hipertenzija i AB. Poznato je kako n-3 polinezasićene masne kiseline imaju protuupalna i imunomodulatorna svojstva i koriste se u prevenciji i liječenju bolesti koje karakterizira kronična upala crijeva (bolest iritabilnog crijeva i reumatoidni artritis) i neurodegeneracija (AB) (Pistollato i Battino 2014). Dvije takve masne kiseline su dokosaheksaenoična kiselina (DHA) i eikosapentanoična kiselina (EPA) koje su prisutne u ribi i ribljem ulju. U mozgu pacijenata oboljelih od AB-a pronađen je smanjeni sadržaj DHA u području sive tvari prednjeg režnja i hipokampusu pa iako se DHA može sintetizirati u



tijelu iz n-3 masne kiseline  $\alpha$ -linolenske kiseline, koja je prisutna u uljima nekog povrća, orašastih plodova i sjemenki, preporuča se konzumacija ribe dva puta tjedno (Connor i Connor 2007). Prehrana s visokim udjelom mono- i poli- nezasićenih kiselina, povrća i voća, a s malo ili ništa mesa (uglavnom proteini bez masti) povezane su s većom prisutnošću *Prevotella* nego *Bacteroides* te sa smanjenim rizikom za nastanak AB-a (Greiner i sur. 2014). *Prevotella* eksprimiraju gene koji kontroliraju hidrolizu celuloze i ksilana, dok *Bacteroides* posjeduju više gena potrebnih za cijepanje aminokiselina, iz tog razloga vrste iz roda *Bacteroides* više su prisutne u zapadnoj populaciji, gdje prevladava prehrana bogata životinjskim proteinima, mastima i s malo vlakana (Pistollato i sur. 2016). Mediteranski stil prehrane smatra se idealnim primjerom za prevenciju mnogih bolesti i očuvanje cjelokupnog zdravlja. Ta nutritivno uravnotežena prehrana okarakterizirana je unosom visoke količine vlakana, maslinovog ulja, voća, orašastih plodova, povrća i žitarica; umjerenom konzumacijom ribe i peradi; smanjenim unosom mliječnih proizvoda, crvenog mesa, obrađenog mesa i slatkiša te umjerenom konzumacijom vina uz obrok. Mediteranska i Azijska prehrana povezuju se sa smanjenom pojavnosti kroničnih bolesti kao što su pretilost, dijabetes tipa II, kardiovaskularne bolesti i neurodegenerativne bolesti uključujući AB (Abuznait i sur. 2013; Stefani i Rigacci 2014; Rigacci 2015; Nagpal i sur. 2019).

Fitokemijski spojevi iz voća i povrća imaju niz pozitivnih učinaka kao što su uklanjanje slobodnih radikala, antioksidacijska aktivnost, regulacija gena za staničnu proliferaciju i apoptozu te redukcija upale. Kemopreventivni sastojci prehrane djeluju kao induktori detoksifikacijskih enzima, to su fenoli i spojevi sa sumporom (Greiner i sur. 2014). Prebiotici su „selektivno fermentirani prehrambeni sastojci koji dopuštaju specifične promjene u sastavu i/ili aktivnosti gastrointestinalne mikrobiote koja daje pogodnosti za zdravlje domaćina“ (Sauliner i sur. 2013). Nutrijenti biljnog podrijetla imaju učinak prebiotika odnosno utječu na sastav crijevne mikrobiote inhibirajući širenje patogenih bakterija i potičući rast dobrih bakterija. Primjer su fenoli iz čaja i njihovi aromatski metaboliti koji inhibiraju rast patogenih bakterija poput *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* i *Bacteroides*. Oni tako utječu na razinu lipopolisaharida i amiloida proizvedenih od strane bakterija. Među te povoljne nutrijente biljnog podrijetla spadaju ekstrakt češnjaka, orašasti plodova, resveratrol i biljke kao što su ružmarin, cimet, đumbir, kadulja i kurkuma (Pistollato i sur. 2016). Zabilježen je pozitivan utjecaj fenola prisutnih u namirnicama kao što su zeleni čaj, šumsko voće, začini, ekstradjevičansko maslinovo ulje, crveno vino i aromatsko bilje, koji smanjuju pojavnost bolesti ovisnih o amiloidima (Stefani i Rigacci 2014).

Veliki značaj pridaje se ekstradjevičanskom maslinovom ulju koje iako se sastoji od 98% glicerida, a u preostalih, ali iznimno važinih 2% spadaju  $\alpha$ -tokoferol i specifični fenolni spojevi koji uključuju: fenolne kiseline, fenolne alkohole, lignane, flavone i vrlo važne sekoiridoide. Primjerice, fenolne komponente ekstradjevičanskog maslinovog ulja sekoiridoidi, oleuropein aglikon i oleokantal potiču uklanjanje  $A\beta$  i autofagiju te inhibiraju agregaciju tau proteina i neuroupalu (Servili i sur. 2009; Abuznait i sur. 2013; Rigacci 2015). Oleuropein aglikon (OLE) nastaje iz oleuropeina pod djelovanjem  $\beta$ -glukozidaze koja se oslobađa prilikom drobljenja maslina, ponaša se i kao inhibitor agregacije amiloidnih peptida i kao signalna molekula koja potiče zaštitne odgovore kao što su autofagija i redukcija upale. OLE ima i potencijal u inhibiciji fibrilacije tau proteina što uzrokuje reducirano taloženje fibrilarnog materijala (Rigacci 2015). Oleokantal (OLC) može pomoći uklanjanju  $A\beta$  iz mozga pozitivno regulirajući degradacijske enzime (inzulin-degradacijski enzim i neprilizin) i  $A\beta$  transportere kao P-gp i LRP1 na krvno-moždanoj barijeri (Abuznait i sur. 2013; Pistollato i sur. 2016). Kada taloženje amiloidnih proteina nadjača kapacitet puferiranja stanice vrlo je povoljan proces autofagije kojeg može potaknuti OLC, ali i snažna protuupalna aktivnost protiv neuroupale vezane za AB. Smatra se da OLC ima preventivnu ulogu jer kada je prisutan u staničnom okolišu prije same pojave amiloidnih nakupina uspješno sprječava toksičan ishod amiloida (Rigacci 2015). Stvaranje amiloidnih fibrila sprječavaju i polifenoli epigalokatehin galata (EGCG) i teaflavini. EGCG sprječava fibrilogenezu  $A\beta$  i  $\alpha$ -syn, ali i sazrijevanje tih fibrila u velike toksične agregate te ih pretvara u male amorfne agregate koji nisu toksični za sisavce pa se smatra da zato može imati preventivni učinak na AB i Parkinsonovu bolest (Bieschke i sur. 2010). Namirnice kao što su datulje predstavljaju dobar izvor vlakana, fenola i antioksidanasa kao što su antocijani, ferulinska kiselina, protokatekuijska kiselina i kafeinska kiselina pa reduciraju  $A\beta$  *in vivo* (Subash i sur. 2015).  $\kappa$ -kazein je protein iz mlijeka koji spontano formira amiloidne fibrile pri fiziološkim uvjetima, taj učinak agregacije kao i agregaciju  $A\beta$  inhibira galna kiselina koja se nalazi u sjemenkama grožđa (Liu i sur. 2013). Jedan od razloga zašto hrana životinjskog podrijetla, kao što je crveno i obrađeno meso, utječe na patogenezu AB-a je to što sadrži veliku količinu trovalentnog iona željeza koji doprinosi formiranju fibrinskih vlakana za koje je poznato da zapetljaju eritrocite čime se onemogućuje dopremanje kisika do CŽS. Suprotan učinak ima magnezij iz klorofila koji uklanja agregate eritrocita povezanih fibrinom (Pistollato i sur. 2016). U istraživanju provedenom na transgeničnim miševima APP/PS1 dokazano je kako silimarin i njegova glavna aktivna komponenta silibinin

imaju pozitivan učinak na sprječavanje razvoja AB-a. Silimarin i silibinin uzrokuju promjenu u sastavu crijevne mikrobiote i smanjenje raznolikosti mikrobiote APP/PS1 miševa, primjerice dolazi do povećanja prisutnosti roda *Akkermansia* i *Allobaculum* za koje je dokazana negativna korelacija s AB-om. Silimarin i njegov glavni flavonolignan silibinin imaju učinak smanjenja deficita u memoriji i mogu reducirati amiloidne plakove u mozgu, imaju antioksidacijska svojstva tako što direktno uklanjaju slobodne radikale, ali i preventivno onemogućuju stvaranje ROS-ova inhibirajući za to odgovorne enzime (Shen i sur. 2019; Surai 2015).

Neke namirnice sadrže D-glutamat koji, kao što je ranije u tekstu navedeno, djeluje kao agonist NMDA receptora odnosno ekscitatorski neurotransmitter u mozgu. Među te namirnice spadaju kava, sir, riba, povrće, voće, alkoholna pića (pivo, vino i sake), kvasina, meso, jogurt i mlijeko (Marcone i sur. 2020). Najviše D-glutamata nalazi se u fermentiranoj hrani primjerice u prženoj kavi čak do 41%. Ovisno o tipu fermentacije D-glutamat nastaje na različite načine pa kod bakterije *Lactobacillus plantarum* koja provodi mliječno vrenje, nastaje konvertiranjem iz L u D konfiguraciju glutamata (Chang i sur. 2020).

## 5.1. Probiotici

Prethodna istraživanja ukazivala su na to da se starenjem sastav crijevne mikrobiote mijenja tako što raste omjer *Bacteroidetes* vs *Firmicutes*, no ipak prema novijim spoznajama smatra se da među starijom populacijom prevladavaju individualne varijacije sastava mikrobiote koje ovise o prehrani i načinu života. Probiotici i prebiotici kroz moduliranje sastava crijevne mikrobiote mogu spriječiti crijevne i sistemske upale, stimulirati rast populacija *Bifidobacterium* koje smanjuju razinu proupalnih citokina, a smanjiti rast enterobakterija (Sauliner i sur. 2013; Perez i sur. 2014). Probiotici smanjuju razinu proupalnih citokina (IL-5, IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8 i TNF- $\alpha$ ) koji su često povišeno eksprimirani u starijih osoba te smanjuju brojnost prirodnoubilačkih stanica, aktiviranih limfocita i fagocita i na taj način reduciraju upalu (Perez i sur. 2014; Wang i sur. 2015). Probiotici i prebiotici pozitivno utječu na funkcije mozga, primjerice značajno povećavaju signalizaciju BDNF-a koja je smanjena kod pacijenata oboljelih od AB-a (Pistollato i sur. 2016). Direktna primjena probiotika kod transgeničnih miševa smanjila je agregaciju amiloida i neuroupalu te poboljšala kognitivne funkcije AB pacijenata (Syeda i sur. 2018). Unos probiotika može pomoći

u održavanju cjelovitosti crijevne i krvno-moždane barijere i tako pozitivno utjecati na neurodegenerativne bolesti (Sarkar i Baneerjee 2019).

## 6. Sažetak

Sastav crijevne mikrobiote varira kod svakog pojedinca, a ovisan je prehrani, starosti, okolišnim čimbenicima i sveukupnom načinu života. Disbioza crijevne mikrobiote doprinosi razvoju mnogih bolesti među kojima je i Alzheimerova bolest (AB). Alzheimerova bolest je neurodegenerativna bolest koju karakterizira taloženje  $\beta$ -amiloidnih ( $A\beta$ ) plakova i neurofibrilarnih čvorova (NFTs). Za stvaranje  $A\beta$  koji su skloni agregiranju zaslužno je cijepanje amiloid prekursorškog proteina (APP)  $\beta$ - i  $\gamma$ -sekretazom, dok agregaciju tau proteina u NFTs potiču posttranslacijske modifikacije poput fosforilacije. Ključni patogeni mehanizmi AB-a su oksidacijski stres i neuroupala koje prati aktivacija mikroglia stanica i astrocita. Oksidacijski stres predstavlja stanje povećane koncentracije oksidansa koji oštećuju stanice i potiču signalizaciju za apoptozu. Aktivirane mikroglia, astrociti i sustav komplementa okružuju nataložene  $A\beta$  plakove i NFTs što uzrokuje neuroupalu, proces koji zbog povećane permeabilnosti krvno-moždane barijere (BBB) može biti potaknut proupalnim citokinima u mozgu. U fiziološkim uvjetima mikroglia stanice imunskim odgovorom uklanjaju  $A\beta$ , no taj se proces pod utjecajem starenja i promjene sastava crijevne mikrobiote mijenja pa dolazi do progresivnog taloženja  $A\beta$ . Za razvoj AB-a s kasnim početkom rizik predstavljaju genetički faktori, a posebice alel  $\epsilon 4$  apolipoproteina E. APOE4 ima najveći afinitet za vezanje  $A\beta$  pa tako potiče formiranje plakova. Crijevna mikrobiota utječe na signalizaciju u mozgu putem dvosmjerne komunikacije koja se naziva os crijeva-mozak kojom putuju neuromodulatori kao što su kratkolančane masne kiseline (SCFA) koje proizvode bakterije. Za SCFAs je poznato da imaju protuupalne učinke i održavaju cjelovitost crijevne barijere koja predstavlja fizičku barijeru između mikrobioma crijeva i imunskog sustava domaćina. Osim crijevne i krvno-moždana barijera štiti od ulaska molekula i patogena u mozak, ali i posreduje dotok  $A\beta$  pa se njenim narušavanjem potiče patogeneza AB-a. Bakterijski amiloidi u crijevima mogu izazvati imunski odgovor na endogeno proizvedene  $A\beta$  u mozgu što zbog povećanja količine proupalnih citokina uzrokuje neuroupalu. Prehrana predstavlja glavni čimbenik koji određuje sastav crijevne mikrobiote čime indirektno utječe na patogenezu AB-a, ali tvari poput polifenola iz namirnica biljnog podrijetla imaju direktan učinak na inhibiciju agregacije i

uklanjanje A $\beta$  te signaliziraju za autofagiju i redukciju upale. Najbolji primjer povoljnog utjecaja prehrane za prevenciju bolesti poput AB-a je mediteranski tip prehrane sa ekstrapjevanjskim maslinovim uljem koje sadži važne fenole i djeluje antioksidacijski. Sastav crijevne mikrobiote pa tako i razina proupalnih citokina može biti regulirana i probioticima i tako pozitivno utjecati na neuropalu i kognitivne funkcije.

## 7. Summary

The composition of gut microbiota varies from individual to individual and depends on diet, environmental factors, and the overall lifestyle. Dysbiosis of gut microbiota contributes to the development of many diseases, one of which is the Alzheimer disease (AD). Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease characterized by the deposition of  $\beta$ -amyloid plaques and neurofibrillary tangles (NFTs). The amyloid precursor protein (APP) cleavage by  $\beta$ - and  $\gamma$ -secretase is responsible for the formation of  $A\beta$ s that are prone to aggregation, while the aggregation of tau proteins in NFTs is stimulated by posttranslational modifications such as phosphorylation. The key pathogenic mechanisms of AD are oxidative stress and neuroinflammation which are followed by the activation of microglia cells and astrocytes. Oxidative stress is a condition of increased concentration of oxidants that damage cells and stimulate signalization for apoptosis. Activated microglia, astrocytes and the complement system surround deposited  $A\beta$  plaques and NFTs which causes neuroinflammation, a process that can be triggered by proinflammatory cytokines in the brain due to increased permeability of the blood-brain barrier (BBB). Under physiological conditions, microglia cells remove  $A\beta$  through immune response; but this process changes due to ageing and changes in the composition of gut microbiota, resulting in progressive deposition of  $A\beta$ . Genetic factors, especially the  $\epsilon 4$  allele of the apolipoprotein E, pose a risk for the development of AB with a late onset. APOE4 has the highest affinity for  $A\beta$  binding, thus stimulating plaque formation. Gut microbiota affects brain signalization via bidirectional communication called gut-brain axis, through which neuromodulators travel, such as short-chain fatty acids (SCFAs) produced by bacteria. SCFAs are known to have anti-inflammatory effects and maintain the integrity of the gut barrier which represents a physical barrier between the gut microbiome and the host immune system. Apart from the gut barrier, the blood-brain barrier also protects against the entry of molecules and pathogens into the brain, but also mediates the influx of  $A\beta$  so its disruption stimulates the pathogenesis of AB. Bacterial amyloids in the guts can cause an immune response to endogenously produced  $A\beta$  in the brain, which, due to an increase in the amount of proinflammatory cytokines causes neuroinflammation. Nutrition is the main factor that determines the composition of gut microbiota which indirectly affects the pathogenesis of AD; yet substances such as polyphenols from foods of plant origin have a direct effect on the inhibition of aggregation and removal of  $A\beta$ . They also play a role in the signalization for autophagy and in inflammation reduction. The best example of

a diet which can prevent diseases such as AD is the Mediterranean type of diet with extra-virgin olive oil which contains important phenols and has an antioxidative effect. The composition of gut microbiota, as well as the level of proinflammatory cytokines, can be regulated by probiotics which can positively affect neuroinflammation and cognitive functions.

## 8. Literatura

- Abuznait A. H., Qosa H., Busnena B. A., El Sayed K. A., Kaddoumi A., 2013. Olive-oil-derived oleocanthal enhances  $\beta$ -amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: in vitro and in vivo studies. *ACS chemical neuroscience*, **4**(6), 973–982.
- Angelucci F., Cechova K., Amlerova J., Hort J., 2019. Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation* **16**, 108.
- Bhattacharjee S., Lukiw W. J., 2013. Alzheimer's disease and the microbiome. *Frontiers in cellular neuroscience*, **7**, 153.
- Bienenstock J., Kunze W., Forsythe P., 2015. Microbiota and the gut-brain axis. *Nutrition reviews*, **73 Suppl 1**, 28–31.
- Bieschke J., Russ J., Friedrich R. P., Ehrnhoefer D. E., Wobst H., Neugebauer K., Wanker E. E., 2010. EGCG remodels mature alpha-synuclein and amyloid-beta fibrils and reduces cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**(17), 7710–7715.
- Blennow K., de Leon M. J., Zetterberg H., 2006. Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, **368**(9533), 387–403.
- Bostanciklioğlu M., 2019. The role of gut microbiota in pathogenesis of Alzheimer's disease. *Journal of Applied Microbiology*, **127**(4), 954-967.
- Burton G. J., Jauniaux E., 2011. Oxidative stress. *Best practice & research. Clinical obstetrics & gynaecology*, **25**(3), 287–299.
- Canfora E. E., Jocken J. W., Blaak E. E., 2015. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature reviews. Endocrinology*, **11**(10), 577–591.
- Chang C. H., Lin C. H., Lane H. Y., 2020. d-glutamate and Gut Microbiota in Alzheimer's Disease. *International journal of molecular sciences*, **21**(8), 2676
- Connor W. E., Connor S. L., 2007. The importance of fish and docosahexaenoic acid in Alzheimer disease, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **85**(4), 929–930.
- Damjanov I., Seiwert S., Jukić S., Nola M., 2018. Bolesti živčanog sustava. U: Patologija: peto preuređeno i dopunjeno izdanje, pp. 825-827.



- Fariás G., Cornejo A., Jiménez, J., Guzmán L., Maccioni R. B., 2011. Mechanisms of tau self-aggregation and neurotoxicity. *Current Alzheimer research*, **8**(6), 608–614.
- Fox M., Knorr D. A., Haptonstall K. M., 2019. Alzheimer's disease and symbiotic microbiota: an evolutionary medicine perspective. *Ann N Y Acad Sci*. **1449**(1), 3-24.
- Garcez M. L., Jacobs K. R., Guillemin G. J., 2019. Microbiota Alterations in Alzheimer's Disease: Involvement of the Kynurenine Pathway and Inflammation. *Neurotoxicity research*, **36**(2), 424–436.
- Giau V. V., Wu S. Y., Jamerlan A., An S., Kim S. Y., Hulme J., 2018. Gut Microbiota and Their Neuroinflammatory Implications in Alzheimer's Disease. *Nutrients*, **10**(11), 1765.
- Greiner A. K., Papineni R. V., Umar S., 2014. Chemoprevention in gastrointestinal physiology and disease. Natural products and microbiome. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, **307**(1), G1–G15.
- Groen T., Kiliaan J. A., Kadish I., 2006. Deposition of mouse amyloid  $\beta$  in human APP/PS1 double and single AD model transgenic mice. *Neurobiology of Disease*, **23**(3), 653-662.
- Guyton A. C., Hall J. E., 2012. Živčani sustav: C. Motorička i integrativna neurofiziologija. U: *Medicinska fiziologija*, pp. 655-752.
- Haran J.P., Bhattarai S.K., Foley S.E., Dutta P., Ward D.V., Bucci V., McCormick B.A., 2019. Alzheimer's Disease Microbiome Is Associated with Dysregulation of the Anti-Inflammatory P-Glycoprotein Pathway. *mBio*, **10**(3).
- Hill J. M., Clement C., Pogue A. I., Bhattacharjee S., Zhao Y., Lukiw W. J., 2014. Pathogenic microbes, the microbiome, and Alzheimer's disease (AD). *Frontiers in aging neuroscience*, **6**, 127.
- Jia W., Rajani C., Kaddurah–Daouk R., Li H., 2019. Expert insights: The potential role of the gut microbiome-bile acid-brain axis in the development and progression of Alzheimer's disease and hepatic encephatopathy. *Medicinal Research Reviews* **40**(4), 1496-1507.
- Kelleher R. J. III, Shen J., 2017. Presenilin-1 mutations and Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **114**(4), 629-631.

- Kowalski K., Mulak A., 2019. Brain-Gut-Microbiota Axis in Alzheimer's Disease. *Journal of neurogastroenterology and motility*, **25**(1), 48–60.
- Li C. T., Yang K. C., Lin W. C., 2019. Glutamatergic Dysfunction and Glutamatergic Compounds for Major Psychiatric Disorders: Evidence From Clinical Neuroimaging Studies. *Frontiers in psychiatry*, **9**, 767.
- Liu Y., Pukala T. L., Musgrave I. F., Williams D. M., Dehle F. C., Carver J. A., 2013. Gallic acid is the major component of grape seed extract that inhibits amyloid fibril formation. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, **23**(23), 6336–6340.
- Luca M., Di Mauro M., Di Mauro M., Luca A., 2019. Gut Microbiota in Alzheimer's Disease, Depression, and Type 2 Diabetes Mellitus: The Role of Oxidative Stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, **2019**: 4730539.
- Maccioni R. B., Muñoz J. P., Barbeito L., 2001. The molecular bases of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Archives of medical research*, **32**(5), 367–381.
- Marcone G.L., Rosini E., Crespi E., Pollegioni I., 2020. D-amino acids in foods. *Appl Microbiol Biotechnol* **104**, 555–574.
- Moloney R. D., Desbonnet L., Clarke G., Dinan T. G., Cryan, J. F., 2014. The microbiome: stress, health and disease. *Mammalian genome: official journal of the International Mammalian Genome Society*, **25**(1-2), 49–74.
- Nagpal R., Neth B. J., Wang S., Craft S., Yadav H., 2019. Modified Mediterranean-ketogenic diet modulates gut microbiome and short-chain fatty acids in association with Alzheimer's disease markers in subjects with mild cognitive impairment. *EBioMedicine*, **47**.
- Pérez Martínez G., Bäuerl C., Collado M. C., 2014. Understanding gut microbiota in elderly's health will enable intervention through probiotics. *Beneficial microbes*, **5**(3), 235–246.
- Pistollato F., Battino M., 2014. Role of plant-based diets in the prevention and regression of metabolic syndrome and neurodegenerative diseases. *Trends in food science & technology*, **40**, 62-81.

- Pistollato F., Sumalla Cano S., Elio I., Masias Vergara M., Giamperi F., Battino M., 2016. Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutr Review*, **74**(10), 624-634.
- Qiu T., Liu Q., Chen Y. X., Zhao Y. F., & Li Y. M., 2015. A $\beta$ 42 and A $\beta$ 40: similarities and differences. *Journal of peptide science: an official publication of the European Peptide Society*, **21**(7), 522–529.
- Rigacci S., 2015. Olive Oil Phenols as Promising Multi-targeting Agents Against Alzheimer's Disease. *Advances in experimental medicine and biology*, **863**, 1–20.
- Sardi F., Fassina L., Venturini L., Inguscio M., Guerriero F., Rolfo E., Ricevuti G., 2011. Alzheimer's disease, autoimmunity and inflammation. The good, the bad and the ugly. *Autoimmunity reviews*, **11**(2), 149–153.
- Sarkar S. R., Banerjee S., 2019. Gut microbiota in neurodegenerative disorders. *Journal of Neuroimmunology*, **328**, 98-104.
- Saulnier D. M., Ringel Y., Heyman M. B., Foster J. A., Bercik P., Shulma, R. J., Versalovic J., Verdu E. F., Dinan T. G., Hecht, G., Guarner F., 2013. The intestinal microbiome, probiotics and prebiotics in neurogastroenterology. *Gut microbes*, **4**(1), 17–27.
- Selkoe D. J., 2008. Soluble oligomers of the amyloid beta-protein impair synaptic plasticity and behavior. *Behavioural brain research*, **192**(1), 106–113.
- Seo D., Holtzman D. M., 2020. Gut Microbiota: From the Forgotten Organ to a Potential Key Player in the Pathology of Alzheimer's Disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **75**(7), 1232-1241.
- Servili M., Esposito S., Fabiani R., Urbani S., Taticchi A., Mariucci F., Selvaggini R., Montedoro G. F., 2009. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology*, **17**(2), 76–84.
- Shen L., Liu L., Li X.Y., Ji H.F., 2019. Regulation of gut microbiota in Alzheimer's disease mice by silibinin and silymarin and their pharmacological implications. *Applied microbiology and biotechnology*, **103**(17), 7141–7149.

- Stefani M., Rigacci S., 2014. Beneficial properties of natural phenols: highlight on protection against pathological conditions associated with amyloid aggregation. *BioFactors*, **40**(5), 482–493.
- Subash S., Essa M. M., Braidy N., Awlad-Thani K., Vaishnav R., Al-Adawi S., Al-Asmi A., Guillemin G. J., 2015. Diet rich in date palm fruits improves memory, learning and reduces beta amyloid in transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, **6**(2), 111–120.
- Surai P. F., 2015. Silymarin as a Natural Antioxidant: An Overview of the Current Evidence and Perspectives. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, **4**(1), 204–247.
- Syeda T., Sanchez-Tapia M., Pinedo-Vargas L., i sur., 2018. Bioactive Food Abates Metabolic and Synaptic Alterations by Modulation of Gut Microbiota in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.*, **66**(4), 1657-1682.
- Szabady R. L., Louissain, C., Lubben A., Xie B., Reeksting S., Tuohy C., Demma Z., Foley S. E., Faherty C. S., Llanos-Chea A., Olive A. J., Mrsny R. J., McCormic, B. A., 2018. Intestinal P-glycoprotein exports endocannabinoids to prevent inflammation and maintain homeostasis. *The Journal of clinical investigation*, **128**(9), 4044–4056.
- Wang I. K., Wu Y. Y., Yang Y. F., Ting I. W., Lin C. C., Yen T. H., Chen J. H., Wang C. H., Huang C. C., Lin H. C., 2015. The effect of probiotics on serum levels of cytokine and endotoxin in peritoneal dialysis patients: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Beneficial microbes*, **6**(4), 423–430.
- Yiannopoulou K. G., Papageorgiou S. G., 2013. Current and future treatments for Alzheimer's disease. *Therapeutic advances in neurological disorders*, **6**(1), 19–33.