

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Katarina Pauli

**Interakcije crijevnog mikrobioma i
imunološkog sustava**

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Katarina Pauli

**Interactions between the gut microbiome and the
immune system**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Biologije na zavodu za animalnu fiziologiju biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Zoran Tadić.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Interakcije crijevnog mikrobioma i imunološkog sustava

Katarina Pauli

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Crijevo je jedno od najvećih imunoloških organa koje svojom sluznicom djeluju kao barijera protiv prodora patogena, istovremeno esencijalno je za održavanje komunikacije imunološkog sustava i crijevnog mikrobioma. Crijevni mikrobiom zajednica je brojnih bakterija, virusa i gljivica koji na razne načine utječu na imunološki odgovor. Bakterije svojim metabolitima reguliraju proliferaciju, diferencijaciju i funkcionalnost imunoloških stanica. Svojim utjecajem na imunološki sustav promiču homeostazu crijeva ili pogoršavaju upalne procese. Jedna vrsta bakterijskih metabolita, kratkolančane masne kiseline (eng. short-chain fatty acids, dalje: SCFA), pokazale su se kao važni medijatori upalnih procesa. SCFA-producirajuće bakterije dominiraju zdravim crijevom. Međutim, različiti čimbenici uzrokuju promjene u sastavu mikrobioma, gdje se povećava kolonizacija patogena, što dovodi do disbioze crijeva. Disbioza crijeva povezana je s patogenezom različitih bolesti i povećanoj podložnosti zarazama. S obzirom na to da se svakim novim istraživanjem interakcije crijevnog mikrobioma i imunološkog sustava pokazuju esencijalnim za zdravlje cijelog organizma, istraživanje ovog područja vrlo je važno za proučavanje patogeneze bolesti povezanih s disbiozom i razvojem novih lijekova i tretmana.

Ključne riječi: kratkolančane masne kiseline (SCFA), disbioza, crijevna sluznica
(21 stranica, 2 slika, 0 tablica, 71 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv.prof. dr. sc. Zoran Tadić

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Interactions between the gut microbiome and the immune system

Katarina Pauli

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

The intestine is one of the largest immune organs, its mucosa acts as a barrier against the penetration of pathogens. It is also essential for maintaining communication between the immune system and the gut microbiome. The gut microbiome is a big community of bacteria, viruses and fungi that influence the immune response in various ways. Bacteria regulate the proliferation, differentiation and functionality of immune cells with their metabolites. Through their influence on the immune system, they promote gut homeostasis or worsen inflammatory processes. One type of bacterial metabolites, short-chain fatty acids (SCFA), have shown to be important mediators of inflammatory processes. SCFA-producing bacteria dominate the healthy gut, however various factors cause changes in the composition of the microbiome where pathogen colonization increases causing gut dysbiosis. Gut dysbiosis is associated with the pathogenesis of various diseases and increased susceptibility to infections. New studies show that the interaction between the gut microbiome and the immune system is essential for the health of the whole organism, research in this area is critical for the understanding of the pathogenesis of dysbiosis-related diseases and the development of new drugs and treatments.

Keywords: short-chain fatty acids (SCFA), dysbiosis, gut mucosa
(21 pages, 2 figures, 0 tables, 71 references, original in: croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: izv.prof.dr.sc. Zoran Tadić

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Kratkolančane masne kiseline (SCFA)	2
2.1. Receptori i mehanizam djelovanja SCFA	2
2.2 SCFA i nespecifični imunološki sustav	3
2.3. SCFA i specifični imunološki sustav	5
3. Interakcije drugih bakterijskih metabolita i imunološkog sustava	7
4. Disregulacija imunološkog sustava usred disbioze crijeva	9
5. Zaključak	13
Literatura	14
Životopis	21

1.Uvod

Imunološki sustav obuhvaća mrežu molekula, stanica, tkiva i organa koji djeluju kao mehanizam obrane tijela protiv patogena i vlastitih malignih stanica (Murphy i Weaver 2017). Crijevo je jedno od najvećih organa s imunološkom funkcijom. Sluznica crijeva fizička je barijera koja sprječava prodor patogena i stranih antigena u tijelu, ali sudjeluje i u regulaciji imunološkog sustava i održavanju homeostaze crijeva (Calleja-Conde i sur. 2021). Stanice i tkiva imunološkog sustava u neposrednoj okolini crijeva nalaze se ispod sluznice crijeva, u sloju vezivnog tkiva koji se zove lamina propria (dalje: LP) (Takiishi i sur. 2017). Sluznica crijeva glavni je posrednik komunikacije imunološkog sustava i crijevnog mikrobioma.

Mikrobiom zajednica je bakterija, virusa, gljivica i protozoa čija se brojnost procjenjuje na 100 trilijuna stanica (Belkaid i Hand 2014). Imunološki sustav održava simbiotski odnos s mikrobiomom, a međusobne interakcije ključne su za osnažavanje imuniteta, održavanje homeostaze organizma i kvalitete života domaćina (Riazi-Rad i sur. 2021). Istraživanja na "germ-free" životinjama pokazuju da rana kolonizacija crijeva mikrobiomom promiče pravilan razvoj imunološkog sustava, osobito limfoidnog tkiva povezanog s crijevom (Gensollen i sur. 2016). Sastav i stabilnost mikrobne zajednice crijeva odraz je zdravlja mikrobioma, a time i zdravlja organizma domaćina (Ivanov i Honda 2012). Znatne promjene u sastavu mikrobne zajednice imaju negativan učinak na zdravlje domaćina, stanje koje nazivamo disbioza (Levy i sur. 2017). Stanje disbioze povezano je s razvojem bolesti i povećanoj podložnosti organizma patogenima. Neuravnoteženu crijevnu floru obilježava povećanje broja patogena i njihovih metabolita, oštećenu propusnost sluznice crijeva, što povećava translokaciju patogena u sistemsku cirkulaciju i rizik od upala i zaraza (Yoo i sur. 2020). Zdravim mikrobiomom crijeva dominiraju bakterije reda *Firmicutes* i *Bacteroidetes*; obje skupine fermentacijom ugljikohidrata proizvode kratkolančane masne kiseline (eng. short-chain fatty acids, dalje: SCFA) koje utječu na lokalni imunološki odgovor u crijevima te sudjeluju i kao imunološki posrednici u mozgu, jetri, gušterači i drugih organa (Fusco i sur. 2023; Silva i sur. 2020).

Interakcije crijevnog mikrobioma i imunološkog sustava složena su mreža bakterijskih metabolita, signalnih puteva i staničnih odgovora, a važni su za razumijevanje djelovanja imunološkog sustava i patogeneze bolesti povezanih s disbiozom. U ovom radu, naglasit ću utjecaj SCFA kao najznačajnijih regulatora imunološkog sustava.

2. Kratkolančane masne kiseline (SCFA)

SCFA su masne kiseline s dva do šest ugljikovih atoma. U crijevima su najzastupljenije octena (acetatna), propionska i maslačna (butiratna) kiselina (den Besten i sur. 2013). Proizvode ih anaerobne bakterije u crijevu fermentacijom dijetalnih vlakana tj. hrane biljnog podrijetla, koje ljudski probavni enzimi ne mogu razgraditi (Macfarlane i Macfarlane 2012). SCFA imaju razne učinke na organizam: glavni su izvor energije za crijevne epitelne stanice (eng. intestinal epithelial cells, dalje: IEC), utječu na proizvodnju crijevne sluzi, protok krvi kroz sluznicu crijeva, apsorpciju elektrolita, autonomni živčani sustav, sekreciju crijevnih hormona te su ključni regulatori imunološkog sustava (Koh i sur. 2016). One pridonose i održavanju imunološke homeostaze na izravan i neizravan način. Izravno, kroz modulaciju funkcija stanica imunološkog sustava, a neizravno potiču održavanje integriteta sluznice crijeva te sudjeluju u oblikovanju mikrookoliša u crijevu (Yoo i sur. 2020).

2.1. Receptori i mehanizam djelovanja SCFA

SCFA modificiraju funkciju stanica domaćina promjenom ekspresije pojedinih gena, komunikacija počinje aktivacijom receptora povezanih s G proteinom (dalje: GPCR) ili apsorpcijom putem transportera te uglavnom slijedi inhibicija histon deacetilaza (dalje: HDAC). Aktivnost SCFA ovisi o tipu stanice ili tkiva na koji djeluju, a uglavnom imaju protuupalni učinak koji se ostvaruje regulacijom proliferacije, aktivacije, diferencijacije i izlučivanja citokina pojedinih stanica imunološkog sustava te poticanje funkcionalnosti crijevne sluznice (Vinolo i sur. 2011a).

Najbolje istraženo djelovanje SCFA je preko GPCR, primjerice receptora slobodne masne kiseline 3 (dalje: GPR41), receptora slobodne masne kiseline 2 (dalje: GPR43) i receptora hidrosikarboksilne kiseline 2 (dalje: GPR109a) (Ohira i sur. 2017). GPR41 i GPR43 prepoznaju acetat, propionat i butirat, dok je GPR109a specifičan za butirat (Brown i sur 2003., Thangaraju i sur. 2009).

Epitelne stanice debelog crijeva tj. kolonociti apsorbiraju SCFA putem natrij-vezanog monokarboksilatnog transportera-1 (eng. solute carrier family 5 member 8, dalje: SLC5A8). Gen SLC5A8 smanjene je ekspresije u kancerogenim stanicama debelog crijeva, što ukazuje na njegovu

moguću ulogu tumor-supresor gena (Adeva-Andany i sur 2014). Transporter regulira promet butirata u kolonocite te time i inhibiciju HDAC (Martin-Gallausiaux i sur. 2021).

SCFA-posredovana inhibicija upalnih i tumorogenih procesa te razvoj tolerancije najčešće su rezultat inhibicije HDAC. HDAC je enzim koji deacetilira histone, čime oblikuje strukturu kromatina i epigenetski mijenja aktivnost gena (Hull i sur. 2016). Izostankom deacetilacije, aktiviraju se prethodno utišani geni te posljedično dolazi do niza učinaka na kemotaksiju, proliferaciju, diferencijaciju i apoptozu stanica (Kaisar i sur. 2017). Inhibicijom HDAC putem SCFA, potiče se tolerantni, protuupalni tip stanica. Primjerice, inhibicijom histon deacetilaza 9 (HDAC9) povećava se acetilacija regije "forkhead box" proteina P3 (dalje: Foxp3) regulatornih T-stanica (dalje: Treg) i razvija se tolerantni tip Treg. Istodobno zbog vezanja Foxp3 na IL-2 promotor, smanjuje se izlučivanje proupalnog interleukina 2 (dalje: IL-2) (Tao i sur. 2007). Izostanak HDAC deacetilacije je pretpostavljeni mehanizam SCFA-posredovane inaktivacije NF- κ B (nuklearni faktor kapa-lakih lanaca-pojačivač aktiviranih B-stanica) signalnog puta i smanjene proizvodnje proupalnih citokina: tumorskog faktora nekroze α (dalje: TNF- α), IL-2, interleukina 6 (dalje: IL-6) i interleukina 8 (dalje: IL-8) u neutrofila i monocita. Kao posljedica smanjuje se upalni proces i tumorogeneza (Ma i sur. 2022; Vinolo i sur. 2011b).

2.2 SCFA i nespecifični imunološki sustav

Nespecifični imunološki odgovor napada sve strane antigene i obavještava ostatak imunološkog sustava o svakom stranom antigenu/stanici. SCFA utječu na nespecifični imunološki odgovor kroz modulaciju aktivnosti IEC-a, monocita/makrofaga, neutrofila i dendritnih stanica (eng. dendritic cell, dalje: DC) (Corrêa-Oliveira i sur. 2016). Primarnu crtu obrane čine IEC sluznice crijeva, a sekundarnu imunološke stanice u LP-u. SCFA kroz DC može utjecati i na antigen specifične odgovore odnosno aktivaciju specifičnog imunološkog odgovora.

Iako IEC nisu imunološke stanice, one sudjeluju u nespecifičnom imunološkom odgovoru kao barijera koja se suprotstavlja translokaciji patogena u sistemsku cirkulaciju i kroz oblikovanje okoliša u lumenu crijeva. IEC eksprimiraju peroksizomski proliferatorom-aktivirani receptor gama (eng. peroxisome proliferator-activated receptor gamma, dalje: PPAR- γ) koji, kada se stimuliraju butiratom, potiče održavanje hipoksičnog okoliša u crijevima, kroz oksidativnu fosforilaciju u kolonocitima i β - oksidaciju SCFA u mitohondrijima (Grabacka i sur. 2022). Hipoksični okoliš

odgovara obligatnim anaerobima koji dominiraju zdravim crijevom, dok se inhibira rast patogena - fakultativnih anaeroba skupine *Enterobacteriaceae* (Byndloss i sur. 2018). SCFA izravno sprječavaju kolonizaciju patogena skupine *Enterobacteriaceae* kroz intracelularnu acidifikaciju. U kiselom okolišu crijeva, fiziološke koncentracije acetata i butirata, apsorpcijom od strane patogena, zakiseljavaju stanice *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli* te time neizravno smanjuje korištenje O₂ i NO₃ što suprimira rast *K. pneumoniae* i *E. coli* (Sorbara i sur. 2019). Butirat također poboljšava uspostavljanje čvrstih spojeva između IEC-a, čime se smanjuje propusnost crijevne sluznice tj. štiti od translokacije patogena (Peng i sur. 2009).

Makrofazi su imunološke stanice s najvećom sposobnošću fagocitoze. Nastaju iz monocita koji cirkuliraju krvotokom, a ulaskom u tkiva diferenciraju u makrofage. Butirat potiče prijelaz monocita u makrofage inhibicijom histon deacetilaza 3 (HDAC3). Makrofazi pod utjecajem butirata pokazuju povećanu antimikrobnu aktivnost (Schultess i sur. 2019) Makrofazi u lamini propriji čine dodatnu barijeru koja sprječava translokaciju patogena u sistemsku cirkulaciju, a istovremeno posreduju u toleranciji imunostava prema crijevnom mikrobiomu. Postoje dva tipa makrofaga: proinflamatorni M1 i antiinflamatorni M2. Butirat i propionat potiču razvoj M2 makrofaga koji sudjeluju u prekidu upale i popravku oštećenog tkiva (Ji i sur. 2016). Dodatno smanjuju i izlučivanje proupalnih citokina: IL -2, IL-6 i tumorskog faktora nekroze (dalje: TNF) (Chang i sur. 2014).

GPR43 jedini je funkcionalni receptor za SCFA kod neutrofila. Maslowski i sur. (2009) predlažu da se aktivacijom GPR43 tj. vezanjem acetata na njega potiče aktivnost fagocitoze i otpuštanje reaktivnih kisikovih vrsta u neutrofila. Komunikacija SCFA putem GPR43 ukazuje na povezanost bakterijskog metabolizma i upalnih procesa crijeva. Aktivacija receptora vezanjem acetata važan je korak u prekidu kronične upale u mišjim modelima astme, artritisa i kolitisa (Maslowski i sur. 2009).

DC su antigen-prezentirajuće stanice koje mogu pružati nastavke iz LP u lumen crijeva i hvatati bakterije. One su važni posrednici u aktivaciji antigen specifične obrane (Rescigno i sur. 2001). Li i sur. (2024) pokazali su ulogu GPR41 kao negativnog regulatora sazrijevanja DC kod dijabetesa tipa 1 (dalje: T1D) i zaštitnu ulogu SCFA u supresiji autoimunološkog odgovora i održavanju homeostaze crijeva i gušterače. GPR41^{-/-} (manjak GPR41 receptora) miševi pokazuju crijevnu disregulaciju i povećanu migraciju crijevnih IFN- γ ⁺ T-stanica (T-stanice koje izlučuju interferon

gama) u gušteraču te veću podložnost razvoju T1D. DC imaju važnu ulogu u kontroli tolerancije u T1D. Zreli DC prezentiraju autoantigene β -stanica gušterače i time pokreću napad CD4⁺ ili CD8⁺ T-stanica na β -stanice, dok tolerantni DC prezentiranjem autoantigena potiču proliferaciju Treg stanica i smanjuju autoimuni napad (Khan i sur. 2022; Zerif i sur. 2017). SCFA vezivanjem na GPR41 potiče razvoj DC u tolerantni tip. Dakle, one potiču smanjenje upalnog procesa u gušterači.

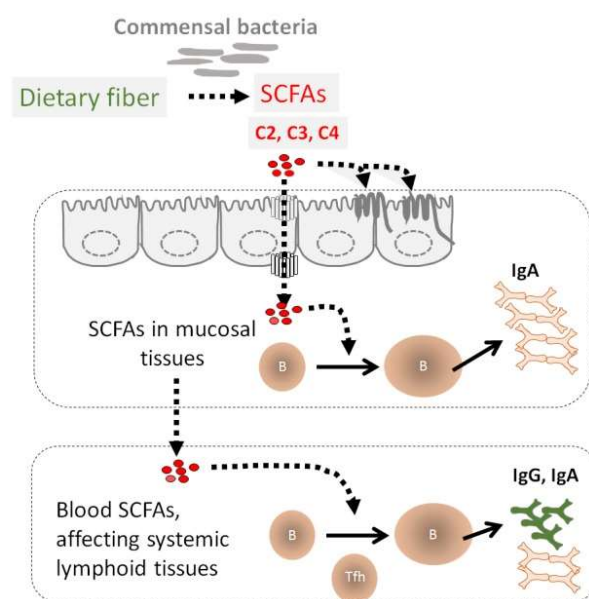
2.3. SCFA i specifični imunološki sustav

Specifičnim imunološkim odgovorom upravljaju T-limfociti i B-limfociti. Veliki dio njihovog razvitka odvija se u Peyеровим pločama, limfoidnom tkivu vezanom za crijevo (Fagarason i sur. 2010). SCFA su esencijalni u usmjeravanju diferencijacije i aktivacije T- i B-limfocita. Poznato je da pokreću diferencijaciju T-stanica u interleukin 17- (dalje: IL-17), interferon gama- (dalje: IFN- γ) ili interleukin 10- (dalje: IL-10) producirajuće stanice, odnosno razvoj naivnih T-stanica u efektorske proupalne Th17 i Th1 ili regulatorne T-stanice (Treg), ovisno o imunološkom kontekstu (Park i sur. 2015). S druge strane propionat i butirat, kada su prisutni u malim koncentracijama, zaustavljaju proliferaciju T-stanica. Dodatno butirat potiče apoptozu u aktiviranih T-limfocita (Curi i sur. 1993; Bailón i sur. 2010).

Treg modificiraju odgovor drugih imunoloških stanica, kroz interferenciju funkcije antigen-prezentirajućih stanica i zaustavljanje proliferacije T-stanica. Svojom aktivnošću, sprječavaju pretjerani imunološki odgovor te su stoga ključne u borbi protiv autoimunih bolesti (Murphy i Weaver 2017). Aktivacijom GPR109a posredstvom butirata na makrofazima i DC potiče se ekspresija IL-10 koji navodi T-stanice u diferencijaciju u Treg stanice, a gasi razvoj u proupalne Th17 povećanom ekspresijom Foxp3, transkripcijskog faktora potrebnog za Treg diferencijaciju. S druge strane butirat može izravno, aktivacijom GPR43 na T-limfocitima, potaknuti inhibiciju HDAC. Time se potiče transkripcija Foxp3 (Arpaia i sur. 2013). Osim toga on potiče, u T-helper stanica, proizvodnju citokina koji smanjuju upalne procese (Al Nabhani i sur. 2019). Niacr1(GPR109A)^{-/-} (manjak GPR109A receptora) miševi pokazuju povećanu podložnost razvoja kolitisa i raka debelog crijeva. Aktivacija Treg stanica ovisna o GPR109a značajna je za održavanje homeostaze crijeva i kočenje upale te je povezana sa zaštitom od bolesti poput ulcerativnog kolitisa i raka debelog crijeva (Singh i sur. 2014).

Potencijalnu ulogu u diferencijaciji Th17 i proliferaciji Th1 pokazuje prostaglandin E₂ (PGE₂) (Yao i sur. 2009). PGE₂ je posrednik u upalnim procesima, a na njegovu ekspresiju utječu SCFA i to kroz regulaciju aktivnosti NF-κB signalnog puta (Usami i sur. 2008). Th17 i Th1 su podtipovi efektorskih T-helper stanica koji aktiviraju makrofage i potiču upalu u tkivima, kako bi se uništili izvanstanične patogene. Međutim, pretjerani imunološki odgovor je povezan s osjetljivošću na vlastite antigene i razvojem imunoloških bolesti (Zhu i Paul 2008). Njihovu negativnu ulogu u patogenezi bolesti podržavaju različita istraživanja koja su uočila povećanu aktivnost ovih stanica kod osoba oboljelih od multiple skleroze, Crohn-ove bolesti i reumatoidnog artritisa (Steinman 2007).

SCFA utječu na proizvodnju imunoglobulin A (dalje: IgA) i imunoglobulin G (dalje: IgG) te diferencijaciju B-limfocita (Slika 1). Kim i sur. (2016) pokazuju kako povećana proizvodnja SCFA, zbog prehrane bogate vlaknima, povećava crijevne IgA i sistemske IgA i IgG koncentracije, na modelu miša.



Slika 1. Utjecaj SCFA na proizvodnju imunoglobulina. SCFA lokalno potiče diferencijaciju B-limfocita u plazma stanice i proizvodnju IgA u crijevima, a kod sistemskog limfoidnog tkiva dodatno potiče i proizvodnju IgG. Preuzeto iz Kim (2016).

Povišena aktivnost gene za diferencijaciju B-limfocita u efektorske plazma stanice stimulira acetat vezanjem za GPR43 DC-a koji onda potiče diferencijaciju B-limfocita posredstvom retinoične kiseline (Wu i sur. 2016). Općenito, SCFA na koncentraciju imunoglobulina utječu kroz aktivaciju metabolizma: glikolize, oksidativne fosforilacije i sinteze masnih kiselina, čime se stvara energija i molekule potrebne za izgradnju imunoglobulina te putem regulacije gena za ekspresiju IgA i IgG. IgA je najbrojnije antitijelo u crijevima. Prepoznavanjem i vezanjem stranih antigena štiti sluznicu crijeva i sudjeluje u kontroli crijevnog mikrobioma. Na ekspresiju IgA utječu i drugi bakterijski metaboliti.

3. Interakcije drugih bakterijskih metabolita i imunološkog sustava

Pored SCFA, imunološki odgovor regulira se i drugim bakterijskim metabolitima. Kako bi se pokrenuo primjereni imunološki odgovor, razvijen je sustav prepoznavanja mikroba u obliku dva tipa receptora za prepoznavanje uzoraka (dalje: PRR): nukleotidno-vezujući oligomerizacijski receptori (dalje: NLR) i toll-like receptori (dalje: TLR), koji prepoznaju molekulske obrasce povezane s patogenom (eng. pathogen-associated molecular patterns, dalje: PAMP) (García-Montero i sur. 2021). Proces prepoznavanja prvi je korak u pokretanju signalnih puteva, aktivacije ekspresije gena, povećanja proupalnih i antimikrobnih citokina te aktivacije pojedinih imunoloških stanica.

B-limfociti aktiviraju antigen-specifične odgovore, uglavnom u ovisnosti o signalu T-helper limfocita. Osim SCFA, i neki drugi bakterijski metaboliti TLR signalizacijom potiču proizvodnju IgA u B-limfocita. IgA, vezanjem bakterijskih antigena, zadržava mikrobe u crijevnoj sluzi, sprječava vezanje bakterija za crijevni epitel, osobito segmentiranih vlaknastih bakterija (eng. segmented filamentous bacteria, dalje: SFB), te smanjuje ekspresiju proupalnih bakterijskih antigena. IgA, zarobljavanjem antigena, negira negativne učinke patogena. Stoga je ključan u održavanju stabilnosti crijevnog mikrobioma (Cerutti i Rescigno 2008). Miševi s manjkom IgA pokazuju povećane koncentracije lipopolisaharida. Zbog nedostatka antitijela, bakterije su u bližem kontaktu s crijevnim epitelom te se povećava ekspresija imunoloških gena (Shulzenko i sur. 2011). Lipopolisaharid (dalje: LPS) je molekularni uzorak svojstven za Gram negativne bakterije, a česti je pokazatelj bakterijske zaraze koja aktivira imunološke procese. Polisaharidni dio staničnog zida

skriva bakteriju od imunološkog sustava, ali lipidni dio molekule prepoznaje toll-like receptor 4 (dalje: TLR4). U slučaju povećane propusnosti crijevne sluznice, LPS dolazi u sistemsku cirkulaciju i može uzrokovati neuroupalu kroz aktivaciju TLR4. TLR4 aktivira NF- κ B signalni put koji potiče oksidativno/nitrozativno oštećenje, usred ekspresije sintaza dušikovog oksida (iNOS) i ciklooksigenaza (COX-2) (Gárate i sur. 2011).

Toll-like receptor 5 (dalje: TLR5) je receptor flagelina. Aktivacijom toga receptora potiče se diferencijacija B-limfocita u IgA-producirajuće plazma stanice. U eksperimentima s TLR5^{-/-} (manjak TLR5 receptora) miševima smanjena je proizvodnja flagelin-specifičnih antitijela. Bakterije, poput skupine *Proteobacteria*, tada izbjegavaju neutralizaciju antitijelima. Antitijela smanjuju pokretljivost bakterija vezanjem za flagelin. Međutim, u nedostatku IgA-a, povećava se pokretljivost bakterija i ekspresija flagelatnih gena. Povećana pokretljivost bakterija povezana je s oštećenjem i prodiranjem u sluznicu crijeva te razvojem disbioze usred povećane prisutnosti *E. coli*, *Salmonella* i *Clostridium difficile* (Cullender i sur. 2013). Vezanje flagelina na TLR5 potiče lučenje interleukina 23 (dalje: IL-23) u DC-a. Djelovanje IL-23 na urođene limfoidne stanice i interleukina 1 beta (dalje: IL-1 β) na Th17 povećava proizvodnju interleukina 22 i interleukina 17a koji pak potiču lučenje antimikrobnih peptida i regeneraciju tkiva (Lee i sur. 2012). Pravilna aktivacija TLR antigenima bakterija djeluje protektivno na integritet sluznice crijeva te na regulaciju homeostaze crijeva i crijevnog mikrobioma.

Disregulacija NLR-a, povezana je s podložnošću upalnim bolestima poput upalne bolesti crijeva (dalje: IBD). Nukleotid-vezujući oligomerizacijski receptori 1 i 2 (dalje: NOD-1 i NOD-2) prepoznaju bakterijske peptidoglikane, regulacijom NF- κ B signalnog puta reguliraju ekspresiju proupalnih citokina i antimikrobnih peptida. NOD-1 i NOD-2 utječu na sastav crijevnog mikrobioma i sprječavaju naseljavanje patogena. Određeni NLR, poput NLRP6 (eng. NOD-like receptor family pyrin domain containing 6), nakon aktivacije stvaraju multiproteinske komplekse-inflamasome, udruživanjem s ASC-proteinima (eng. apoptosis-associated speck-like protein containing CARD) i kaspazom-1. Kaspaza-1, u svom aktivnom obliku, cijepa pro-IL-1 i pro-IL-18 u aktivne oblike IL-1 β i interleukin 18, a oni onda posreduju u upalnim procesima i imaju protektivni učinak u tumorogenezi. Manjak bilo kojeg člana inflamasoma uzrokuje disregulaciju mikrobne zajednice i veću podložnost kolitisu, dugotrajnim zarazama te raku crijeva (Riazi-Rad i sur. 2021).

4. Disregulacija imunološkog sustava usred disbioze crijeva

Crijevni mikrobiom dinamična je zajednica. Njegov sastav, mijenja se s vremenom u ovisnosti o prehrani, životnim navikama, upotrebi antibiotika i sl. Komenzalne bakterije i patogeni u stalnoj su kompeticiji za resurse i prostor. U zdravom crijevu komenzali prevladavaju patogene. Međutim, različiti čimbenici mijenjaju normalnu organizaciju crijevne mikroflore u korist naseljavanja i prodiranja patogena. Smanjenje funkcionalnosti komenzala uzrokuje disbiozu crijeva i disregulaciju imunološkog sustava. Disbioza je promijenjeno stanje sastava mikrobioma koje ima negativne učinke na zdravlje domaćina. Disbioza crijeva povezana je s nizom bolesti od sindroma iritabilnog crijeva, dijabetesa tipa 2, čestih zaraza *Clostridium difficile*, celijakije, karcinoma debelog crijeva i dr. (Tungland 2018).

Zdravim crijevnim mikrobiomom dominiraju SCFA-producirajuće bakterije reda *Firmicutes* i *Bacteroidetes*. Kod disbioze, uglavnom dolazi do prevladavanja patogenih, Gram-negativnih bakterija poput *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella* i drugih vrsta bakterija porodice *Enterobacteriaceae*. Komenzali pomažu u održavanju stabilnosti crijevne sluznice i reguliraju imunološki odgovor. U slučaju disbioze, dolazi do disregulacije imunološkog odgovora. Disbioza crijeva povezana je s oštećenjem integriteta epitelne barijere i translokacijom patogena u sistemsku cirkulaciju, čime se pojačavaju upalni procesi i opasnost od zaraza. (Yoo i sur. 2020). Najčešći krivci u promjeni ravnoteže mikrobioma su upotreba antibiotika, alkohola te neuravnotežena prehrana.

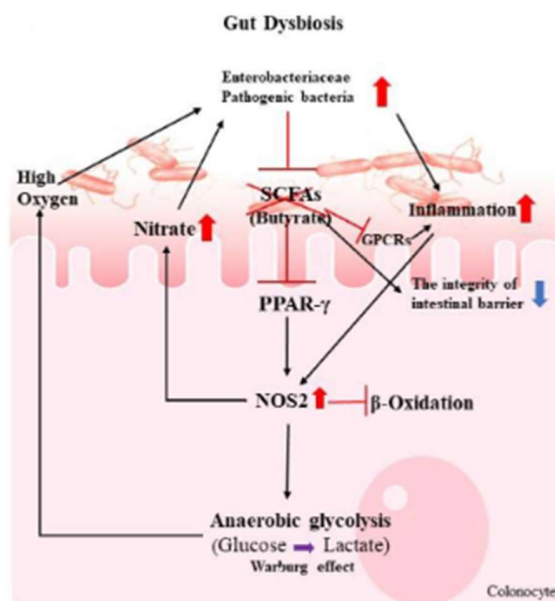
Korištenjem antibiotika širokog spektra često nenamjerno uništavamo i populacije korisnih komenzalnih bakterija. U takvom promijenjenom okolišu crijeva, javljaju se oportunistički patogeni poput *Clostridium difficile*. Zaraze bakterijom *C. difficile* (eng *C. difficile* infection, dalje: CDI) česte su u hospitaliziranih pacijenata dok bakterija u zdravih ljudi gotovo i nema (Douglas i sur. 2020). Te bakterija, izlučivanjem toksina TcdA i TcdB, povećavaju propusnost crijevne sluznice, kroz ozljedu i upalni proces. Toksini aktiviraju inflamosome koji potiču lučenje proupalnih citokina- IL-1 β , IL-8, TNF- α i migraciju neutrofila te dolazi do upale crijevnog epitela. Povećana propusnost sluznice ne samo da omogućuje ulaz u sistemsku cirkulaciju *C. difficile*, već i drugih oportunističkih patogena (Shen 2012). U ljudi u kojih se CDI ponavlja, uočava se smanjena raznolikost crijevnog mikrobioma i smanjenje brojnosti bakterija iz reda *Bacteroidetes* i *Firmicutes* (Chang i sur. 2008) Fekalna transplantacija (transplantacija uzorka mikrobioma zdrave osobe u disbiotičnu osobu) pokazala se kao dobra alternativa liječenju CDI-a, s obzirom na to da

spriječava ponavljanje zaraze. To još, jedan dokaz da pravilni sastav crijevnog mikrobioma jako utječe na homeostazu crijeva (Fuentes i sur. 2014). Tretiranje IL10^{-/-} (manjak IL-10) miševa antibioticima jako mijenja strukturu mikrobioma prema dominaciji bakterija reda *Proteobacteria* (*Pseudomonas* sp., *Escherichia* sp. i *Shigella* sp.) te pogoršava kolitis. Do pojačane upale potencijalno dolazi zbog manjka SCFA producirajućih bakterija što za sobom povlači smanjenje Treg populacije stanica, koje inače smiruju upalu (Shen i sur. 2019). U ljudi, upotreba antibiotika osobito je opasna u novorođenčadi. Djeca postižu mikrobiom "odrasle osobe" u dobi od oko tri godine. Ako se u tom kritičnom periodu zbog antibiotika ne nasele određeni komenzali, djeca su podložnija razvoju astme, alergija i autoimunih bolesti (Tamburini i sur. 2016).

Stabilna prisutnost i metabolizam komenzala ključni su za obranu od patogena, a time i obranu od zaraza i upala. Jedan od načina na koji komenzali održavaju minimalnu prisutnost patogena je upravljanjem kiselosti odn. pH crijeva. Hrana bogata vlaknima rezultira nižim pH, uslijed nakupljanja SCFA stvorenog metabolizmom bakterija te se, posljedično, smanjuje brojnost patogene *E.coli* i ukupnih bakterija porodice *Enterobacteriaceae* koje preferiraju viši pH (Zimmer i sur. 2012). Komenzali sprječavaju virulenciju patogena i iskorištavanjem resursa. Npr. komenzalni fakultativni anaerobi iskorištavaju kisik i sprječavaju patogenost *Shigella flexneri* kojima je kisik potreban za sekreciju faktora virulencije (Yoo i sur. 2020). PPAR- γ signalizacija, ovisna o SCFA, regulira pH i koncentraciju nitrata i kisika u crijevu, a inhibicija signalizacije uzrokovana manjkom SCFA povećava aktivnost sintaze dušikovog oksida (dalje: NOS2), čime se potiče sinteza NO i nitrata, važnih izvora energije patogena. Ujedno NOS2 djeluje pozitivno na Warburgov učinak - promjenu metabolizma IEC-a prema anaerobnoj glikolizi, što povećava koncentraciju kisika. Inhibicija PPAR- γ dovodi do okoliša pogodnog za naseljavanje patogenih bakterija porodice *Enterobacteriaceae* - *E.coli*, *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp. - čiji faktori virulencije potiču akumulaciju neutrofila na sluznici crijeva i daljnji gubitak SCFA-producirajućih bakterija (Slika 2.) (Zhang i sur. 2019).

Upalni procesi uzrokovani disbiozom nisu lokalizirani samo na crijevnu sluznicu. Prekomjerna konzumacija alkohola uzrokuje imunološke odgovore u mozgu i jetri, narušavanjem integriteta epitelne barijere. Etanol i njegovi metaboliti povećavaju propusnost epitela jer utječu na ekspresiju proteina koji čine čvrste spojeve između IEC-a. Oni i dodatno mijenjaju sastav mikrobioma sa smanjenjem pripadnika bakterija svojte *Faecalibacterium* i porodice *Ruminococcaceae*, važnih SCFA proizvođača. Tada dolazi do povećane translokacije patogena u sistemsku cirkulaciju i od

tuda bakterijski metaboliti dolaze u kontakt s jetrenim imunološkim stanicama te uzrokuju steatozu jetre ("masna jetra"), hepatitis, fibrozu, cirozu i hepatocelularni karcinom. Modifikacijom sastava mikrobioma i povećanom propusnosti sluznice, mijenja se količina bakterijskih neuroaktivnih tvari i endotoksina koji dolaze do mozga, inducirajući neuropsihne odgovore u mozgu (Calleja-Conde i sur. 2021).



Slika 2. Funkcija PPAR- γ u oblikovanju okoliša sluznice crijeva. Inhibicijom SCFA ovisne aktivacije PPAR- γ stimulira se NOS2 enzim koji posreduju u povećanoj sintezi kisika i nitrata. Metaboličke promjene potiču kolonizaciju patogena koji induciraju upalu i gubitak SCFA. Preuzeto iz Yoo i sur. (2020).

Uzrok disbioze crijeva je i disregulirana komunikacija, PRR ključni su za održavanje homeostaze crijeva, s obzirom na to da je prepoznavanje bakterija prvi korak za daljnji imunološki odgovor. Npr. MyD88 (eng. myeloid differentiation primary response 88) adaptor protein TLR-a signalizacijom regulira sastav mikrobioma. Tzv. "knock out" miševi pokazuju promijenjeni sastav mikrobioma i povećanu translokaciju patogena u limfne čvorove. Zanimljivo je da je signalizacija preko ovog proteina povezana s patogeneзом T1D. Nedostatak MyD88 štiti od razvoja T1D u miševa kroz njegovu ulogu u regulaciji sastava mikrobioma (Wen i sur. 2008). NLR, kao aktivatori kompleksa inflammasoma, ključni su za rješavanje zaraze patogenima poput *Salmonella* sp. i

Pseudomonas sp.. Ako izostane aktivacija inflammasoma, dolazi do kolitisa i dugotrajnih zaraza (Hu i sur. 2013). Manjak NOD- 1 i NOD-2 povezano je s povećanom kolonizacijom patogena, osobito iz porodice *Enterobacteriaceae*. Disregulacija ovih receptora izravno je povezana s razvojem IBD-a (Riazi-Rad i sur. 2021). Pacijenti s IBD-om, osim povećanja patogena, pokazuju smanjenje broja bakterija reda *Firmicutes*, posebno *Clostridium* klastera IV i XIV te smanjenje protuupalnih imunomodulatora. IBD upalna je bolest koja je pravi primjer deregulacije imunološkog sustava povezanog s promijenjenom interakcijom imunološkog sustava s bakterijskim metabolitima (Nishino i sur. 2018).

5. Zaključak

U ovom radu, opisala sam kako različiti bakterijski metaboliti potiču proupalne ili antiupalne odgovore. Upalni su procesi prijeko potrebni za obranu od patogena i zaraza. Međutim, pretjerani imunološki odgovor oštećuje sluznicu crijeva i zapravo povećava opasnost od širenja zaraza i podložnost različitim bolestima. SCFA su se pokazale kao ključni medijatori upalnih procesa, kroz regulaciju proliferacije, diferencijacije i funkcionalnosti neutrofila, makrofaga, limfocita, DC-a i IEC-a. SCFA također oblikuju okoliš u crijevima te time izravno sprječavaju naseljavanje patogena. Faktori poput hrane siromašne vlaknima, upotrebe antibiotika ili alkohola, mijenjaju sastav mikrobioma, što je povezano s povećanom virulencijom patogena te utječe na složenost bolesti poput IBD-a i T1D. Važnu ulogu mikrobioma dokazuju i slučajevi manjka receptora za prepoznavanje mikroba i njihovih metabolita u miševa i ljudi, kod kojih se onda javlja disregulacija imunološkog sustava i povećani rizik od upalnih bolesti kao što je IBD. Dakle, u proučavanju regulacije odn. disregulacije mikrobioma potrebno je uzeti u obzir i genetiku. Pravilni sastav crijevnog mikrobioma te njegova nesmetana komunikacija s imunosustavom vrlo su važni za zdravlje domaćina. Ova saznanja čine podlogu za istraživanje patogeneze određenih bolesti te potencijalnih lijekova i medicinskih protokola za liječenje istih. Ljudi žive u simbiozi s bakterijama čiji broj stanica čak pretiče broj stanica domaćina. Smatram da smo tek krenuli prema shvaćanju svih međusobnih interakcija i njihovim potencijalnim implikacijama za zdravlje.

Literatura

Adeva-Andany M., López-Ojén M., Funcasta-Calderón R., Ameneiros-Rodríguez E., Donapetry-García C., Vila-Altesor M., Rodríguez-Seijas J. (2014): Comprehensive review on lactate metabolism in human health, *Mitochondrion*. 17: 76-100.

Al Nabhani Z., Dulauroy S., Marques R., Cousu C., Al Bounn S., Déjardin F., Sparwasser T., Bérard M., Cerf-Bensussan, N., Eberl G. (2019): A weaning reaction to microbiota is required for resistanceto immunopathologies in the adult. *Immunity*. 50: 1276–1288.

Arpaia N. i sur. (2013): Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*. 504: 451-455.

Bailón E., Cueto-Sola M., Utrilla P., Rodríguez-Cabezas M.E., Garrido-Mesa N., Zarzuelo A., Xaus J., Gálvez J., Comalada M. (2010): Butyrate in vitro immune-modulatory effects might be mediated through a proliferation-related induction of apoptosis. *Immunobiology*. 215(11):863-873.

Belkaid Y. i Hand T. W. (2014): Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 157(1): 121-141.

Brown A.J. i sur. (2003): The orphan G protein-coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. *J. Biol. Chem*. 278: 11312–11319.

Byndloss M.X. i sur. (2017): Microbiota-activated PPAR-gamma signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science*. 357: 570–575.

Calleja-Conde J., Echeverry-Alzate V., Bühler K.-M., Durán-González P., Morales-García J.Á., Segovia-Rodríguez L., Rodríguez de Fonseca F., Giné E., López-Moreno J.A. (2021): The Immune System through the Lens of Alcohol Intake and Gut Microbiota. *Int. J. Mol. Sci*. 22: 7485.

Cerutti A. i Rescigno M. (2008): The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity*. 28(6): 740-750.

Chang J.Y., Antonopoulos D.A., Kalra A., Tonelli A., Khalife W.T., Schmidt T.M., Young V.B. (2008): Decreased diversity of the fecal Microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J. Infect. Dis*. 197(3): 435-438.

Chang P.V., Hao L., Offermanns S., Medzhitov R. (2014): The microbialmetabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 111: 2247–2252.

Corrêa-Oliveira R., Fachi J.L., Vieira A., Sato F.T., Vinolo M.A. (2016): Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clin. Transl. Immunology*. 5(4): e73

Cullender T.C. i sur. (2013): Innate and adaptive immunity interact to quench microbiome flagellar motility in the gut. *Cell Host Microbe*. 14(5): 571-581.

Curi R., Bond J.A., Calder P.C., Newsholme E.A. (1993): Propionate regulates lymphocyte proliferation and metabolism. *Gen. Pharmacol.* 24: 591-597

den Besten G., van Eunen K., Groen A.K., Venema K., Reijngoud D.J., Bakker B.M. (2013): The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J. Lipid Res.* 54(9): 2325-2340.

Douglas C.A., Ivey K.L., Papanicolas L.E., Best K.P., Muhlhausler B.S., Rogers G.B. (2020): DNA extraction approaches substantially influence the assessment of the human breast milk microbiome. *Sci. Rep.* 10(1): 123

Fagarason C., Kawamoto S., Kanagawa O., Suzuki K. (2010): Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis. *Ann. Rev. Immunol.* 28: 243-273.

Fuentes S. van Nood E., Tims S., Heikamp-de Jong I., ter Braak C.J., Keller J.J., Zoetendal E.G., de Vos W.M. (2014): Reset of a critically disturbed microbial ecosystem: faecal transplant in recurrent *Clostridium difficile* infection. *ISME J.* 8(8): 1621-1633.

Fusco W. i sur. (2023): Short-Chain Fatty-Acid-Producing Bacteria: Key Components of the Human Gut Microbiota Nutrients. 15(9): 2211

Gárate I., García-Bueno B., Madrigal J.L., Bravo L., Berrocoso E., Caso J.R., Micó J.A., Leza J.C. (2011): Origin and consequences of brain Toll-like receptor 4 pathway stimulation in an experimental model of depression. *J. Neuroinflammation.* 8: 151.

García-Montero C. i sur. (2021): Nutritional Components in Western Diet Versus Mediterranean Diet at the Gut Microbiota–Immune System Interplay. Implications for Health and Disease. *Nutrients.* 13: 699.

Gensollen T, Iyer S.S., Kasper D.L., Blumberg R.S. (2016): How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 352(6285): 539-544.

Grabacka M., Płonka P.M., Pierzchalska M. (2022): The PPAR α Regulation of the Gut Physiology in Regard to Interaction with Microbiota, Intestinal Immunity, Metabolism, and Permeability. *Int. J. Mol. Sci.* 23(22): 14156.

Hu B. i sur. (2013): Microbiota-induced activation of epithelial IL-6 signaling links inflammasome-driven inflammation with transmissible cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 9862–9867.

Hull E.E., Montgomery M.R., Leyva K.J. (2016): HDAC Inhibitors as Epigenetic Regulators of the Immune System: Impacts on Cancer Therapy and Inflammatory Diseases. *Biomed. Res. Int.* 2016: 8797206.

Ivanov I.I. i Honda, K. (2012): Intestinal commensal microbes as immune modulators. *Cell. Host. Microbe*. 12: 496–508.

Ji J. i sur. (2016): Microbial metabolite butyrate facilitates M2 macrophage polarization and function. *Sci. Rep.* 6: 24838 .

Kaisar M.M.M., Pelgrom L.R., van der Ham A.J., Yazdanbakhsh M., Everts B. (2017): Butyrate Conditions Human Dendritic Cells to Prime Type 1 Regulatory T Cells *via* both Histone Deacetylase Inhibition and G Protein-Coupled Receptor 109A Signaling. *Front. Immunol.* 8: 1429.

Khan F.U., Khongorzul P., Raki A.A., Rajasekaran A., Gris D., Amrani A. (2022): Dendritic cells and their immunotherapeutic potential for treating type 1 diabetes. *Int. J. Mol. Sci.* 23: 4885.

Kim C.H. (2016): B cell-helping functions of gut microbial metabolites. *Microb. Cell.* 3(10): 529-531.

Kim M., Qie Y., Park J., Kim C.H. (2016): Gut Microbial Metabolites Fuel Host Antibody Responses. *Cell Host Microbe*. 20(2): 202-214.

Koh A., De Vadder F., Kovatcheva-Datchary P., Bäckhed F. (2016): From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell*. 165: 1332-1345.

Lee Y. i sur. (2012) Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat. Immunol.* 13: 991–999.

- Levy M., Kolodziejczyk A.A., Thaïss C.A., Elinav E. (2017): Dysbiosis and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 17: 219–232.
- Li J.H., Zhang M., Zhang Z.D., Pan X.H., Pan L.L., Sun J. (2024): GPR41 deficiency aggravates type 1 diabetes in streptozotocin-treated mice by promoting dendritic cell maturation. *Acta Pharmacol. Sin.* 45: 1466–1476.
- Ma J., Piao X., Mahfuz S., Long S., Wang J. (2021): The interaction among gut microbes, the intestinal barrier and short chain fatty acids. *Anim. Nutr.* 9: 159-174
- Macfarlane G.T. i Macfarlane S. (2012): Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J. AOAC Int.* 95: 50-60.
- Martin-Gallausiaux C., Marinelli L., Blottière H.M., Larraufie P., Lapaque N. (2021): SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *P. Nutr. Soc.* 80(1): 37-49.
- Maslowski K.M. i sur. (2009): Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature.* 461: 1282–1286.
- Murphy K. i Weaver C. (2017) : Janeway’s Immunobiology, 9th ed. Garland Science: New York, NY, USA.
- Nishino K. i sur. (2018): Analysis of endoscopic brush samples identified mucosa-associated dysbiosis in inflammatory bowel disease. *J. Gastroenterol.* 53: 95–106.
- Ohira H., Tsutsui W., Fujioka Y. (2017): Are Short Chain Fatty Acids in Gut Microbiota Defensive Players for Inflammation and Atherosclerosis? *J. Atheroscler. Thromb.* 24(7): 660-672.
- Park J. i sur. (2015): Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR-S6K pathway. *Mucosal. Immunol.* 8: 80–93.
- Peng L., Li Z.R., Green R.S., Holzman I.R., Lin J. (2009): Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J. Nutr.* 139(9): 1619-1625.
- Rescigno M., Rotta G., Valzasina B., Ricciardi-Castagnoli P. (2001): Dendritic cells shuttle microbes across gut epithelial monolayers. *Immunobiology.* 204(5): 572-581.

Riazi-Rad F., Behrouzi A., Mazaheri H., Katebi A., Ajdary S. (2017): Impact of gut microbiota on immune system. *Acta Microbiol. Imm. H.* 68(3): 135-144.

Schulthess J. i sur. (2019): The Short Chain Fatty Acid Butyrate Imprints an Antimicrobial Program in Macrophages. *Immunity.* 50(2): 432-445.

Shen A. (2012): Clostridium difficile toxins: mediators of inflammation. *J. Innate. Immun.* 4(2): 149-158.

Shen B., Hu J., Song H., Wang Z., Fan J., Sun Y., Wang Q. (2019): Antibiotics exacerbated colitis by affecting the microbiota, Treg cells and SCFAs in IL10-deficient mice. *Biomed. Pharmacother.* 114: 108849.

Shulzhenko N. i sur. (2011): Crosstalk between B lymphocytes, microbiota and the intestinal epithelium governs immunity versus metabolism in the gut. *Nat. Med.* 17: 1585–1593.

Silva Y.P., Bernardi A., Frozza R.L. (2020): The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. *Front. Endocrinol.* 11: 25.

Singh N. i sur. (2014): Activation of Gpr109a, receptor for niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity.* 40(1): 128-139.

Sorbara M.T. i sur. (2019): Inhibiting antibiotic-resistant Enterobacteriaceae by microbiota-mediated intracellular acidification. *J. Exp. Med.* 216(1): 84-98.

Steinman, L. (2007): A brief history of TH17, the first major revision in the TH1/TH2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat. Med.* 13: 139–145.

Takiishi T, Fenero C.I.M., Câmara N.O.S. (2017): Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers.* 5(4): e1373208.

Tamburini S., Shen N., Wu H.C., Clemente J.C. (2016): The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat. Med.* 22: 713–722

Tao R. i sur. (2007): Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nat. Med.* 13: 1299–1307.

Thangaraju M. i sur. (2009): GPR109A is a G-protein-coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer Res.* 69: 2826–2832.

Trompette A. i sur. (2014): Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat. Med.* 20: 159–166.

Tungland B. (2018): *Human Microbiota in Health and Disease: From Pathogenesis to Therapy.* Academic Press, Elsevier.

Usami M., Kishimoto K., Ohata A., Miyoshi M., Aoyama M., Fueda Y., Kotani J. (2008): Butyrate and trichostatin A attenuate nuclear factor kappaB activation and tumor necrosis factor alpha secretion and increase prostaglandin E2 secretion in human peripheral blood mononuclear cells. *Nutr. Res.* 28: 321–328.

Vinolo M.A., Rodrigues H.G., Nachbar R.T., Curi R. (2011a): Regulation of inflammation by short chain fatty acids. *Nutrients.* 3: 858–876.

Vinolo M.A., Rodrigues H.G., Hatanaka E., Sato F.T., Sampaio S.C., Curi R. (2011b): Suppressive effect of short-chain fatty acids on production of proinflammatory mediators by neutrophils. *J. Nutr. Biochem.* 22(9): 849-855.

Wen L. i sur. (2008): Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature.* 455: 1109–1113.

Wiertsema S.P., van Bergenhenegouwen J., Garsse J., Knippels L.M.J. (2021): The Interplay between the Gut Microbiome and the Immune System in the Context of Infectious Diseases throughout Life and the Role of Nutrition in Optimizing Treatment Strategies. *Nutrients.* 13: 886.

Wu W. i sur. (2017): Microbiota metabolite short-chain fatty acid acetate promotes intestinal IgA response to microbiota which is mediated by GPR43. *Mucosal Immunol.* 10(4): 946-956.

Yao C., Sakata D., Esaki Y., Li Y., Matsuoka T., Kuroiwa K., Sugimoto Y., Narumiya S. (2009): Prostaglandin E₂-EP4 signaling promotes immune inflammation through T_H1 cell differentiation and T_H17 cell expansion. *Nat. Med.* 15: 633–640.

Yoo J.Y., Groer M., Dutra S.V.O., Sarkar A., McSkimming D.I. (2020): Gut Microbiota and Immune System Interactions. *Microorganisms.* 8(12): 2046.

Zerif E. i sur. (2017): Constitutively active Stat5b signaling confers tolerogenic functions to dendritic cells of NOD mice and halts diabetes progression. *J. Autoimmun.* 76: 63–74.

Zhu J., Paul W.E. (2008): CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood.* 112(5):1557-1569.

Zimmer J., Lange B., Frick J.S., Sauer H., Zimmermann K., Schwartz A., Rusch K., Klosterhalfen S., Enck P. (2012): A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *Eur. J. Clin. Nutr.* 66: 53–60.

Životopis

Rođena sam u Karlovcu 15. studenog 2002. Pohađala sam Osnovnu školu Švarča i Gimnaziju Karlovac u Karlovcu. Tijekom pohađanja Gimnazije Karlovac sudjelovala sam u Erasmus+ projektu „Written on Water“ u 2019. godini. Maturirala sam 2021. i iste godine upisujem prijediplomski sveučilišni studij biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu.