Mikrobiota voli polifenole

Mandurić, Ana Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:094435

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Ana Marija Mandurić

Mikrobiota voli polifenole

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2014.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Ana Marija Mandurić

Mikrobiota voli polifenole

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2014.

Diplomski rad izrađen je u Odjelu za međustaničnu komunikaciju Centra za translacijska i klinička istraživanja Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom mentorice doc.dr.sc. Donatelle Verbanac i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013./2014.

POPIS KRATICA

ATP – adenozin trifosfat

CB – Chronova bolest

COX - ciklooksigenaza (-eng. cyclooxygenase)

DNA - deoksiribonukleinska kiselina (-eng. deoxyribonucleic acid)

ENS - enteralni živčani sustav (-eng. enetric nervous system)

GyrB – DNA giraza, podjedinica B

HGC - grupa s visokom genskom raznolikošću mikrobiota (-eng. high gene count)

HDL - lipoprotein visoke gustoće (-eng. high-density lipoprotein)

IFN - interferon

IL- interleukin

LGC - grupa s niskom genskom raznolikošću mikrobiota (-eng. low gene count)

NF-κB - nuklearni faktor kapa b (-eng. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells)

RNA - ribonukleinska kiselina (-eng. ribonucleic acid)

TNF – faktor tumorske nekroze (eng.tumor necrosis factor)

UBC – upalne bolesti crijeva

UC- ulcerativni kolitis (-eng.ulcerative colitis)

SADRŽAJ

1. SAŽETAK……

2. SUMMARY……..

3. UVOD.....1

3.1 Mikrobiota.....1

3.2 Polifenoli.....4

4. POVEZANOST MIKROBIOTE I POLIFENOLA "Ima neka tajna veza".....7

4.1 Probiotici, prebiotici.....7

4.2 Povezanost mikrobiote i polifenola.....7

5. BOLESTI POVEZANE S DISBIOZOM.....9

6. DOBRI UČINCI POLIFENOLA NA MIKROBIOTU.....13

7. PROBIOTICI KAO POMOĆ U TERAPIJI.....16

8. ZAKLJUČCI.....19

9. ZAHVALE.....20

10. LITERATURA.....21

11.ŽIVOTOPIS.....23

1. SAŽETAK

Crijevna mikrobiota je naziv za skup organizama koji koloniziraju probavni trakt koju čine anaerobne bakterije, 90%, dok se 10% odnosi na ostale eukariotske organizme (gljivice). Prema tri osnovna simbiotička stanja ravnoteže mikrobiote i domaćina određena su tri osnovna tipa sastava mikrobiote koji se nazivaju Enterotipovima koji nisu strogo odvojeni . Učinci koje ona polučuje mogu se podijeliti na metaboličke i imunološke.

Polifenoli su grupa spojeva prirodnih, sintetskih i semisintetskih organskih kemikalija koje sadrže veliki broja fenolnih strukturnih jedinica. Oni su sekundarni metaboliti biljaka u kojima imaju višestruku ulogu ,te su nađeni u nekim insektima i rakovima a poznata je njihova uporaba kao boje u tekstilnoj i prehrambenoj industriji. Pripisuju im se antikancerogena, antiteratogena, protuupalna, antimikrobna, antialergijska i mnoga druga svojstva. Određene doze nekih polifenola mogu modificirati sastav mikrobiote tako da potiču ili inhibiraju rast određenih bakterija.

Disbioza ili disbalans crijevne mikroflore je pojam koji označava narušavanja prirodne ravnoteže mikroorganizama u probavnom traktu. Specifične disbioze su povezane s pretilim osobama, pacijentima koji boluju od diabetesa tip 2, adolescentima s visokim rizikom za diabetes tip 1, sindromom iritabilnog kolona, upalnim bolestima crijeva, proljev povezan s *Clostridium difficile*, kolorektalnim karcinomom.

Danas sve više istražuju i uvode u kliničku praksu nutritivne sastavnice poput probiotika, prebiotika, simbiotika. Široki spektar pozitivnih učinaka otvaraju mogućnosti snižavanja rizika za neke kronične bolesti konzumacijom namirnica bogatih polifenolima. Zasada se najviše istraživanja provodi s kvercetinom, resverastrolom, katehinima i flavonima iz čaja, kurkuminom, rutinom i sojom**.**

Probioti su pripravci živih mikroorganizama koji imaju pozitivne učinke na domaćina poboljšavajući mu ravnotežu crijevne mikroflore, ojačavajući crijevnu barijeru i poboljšavajući lokalni imunološki odgovor. Mehanizam djelovanja je zasad još nije potpuno jasan, usprkos tome zbog direknog efekta na cijeljenje mukoze probiotici postaju opcija u terapiji.

Ključne riječi- mirkobiota , polifenoli, disbioza, probiotici

1. SUMMARY

The gut microbiota is the name given to the microbe population that colonize the digestive tract consisting of anaerobic bacteria, 90% and 10% related to other eukaryotic organisms (fungi). According to three basic well balanced states between the microbiota and the host there are determined three basic types of microbiota composition called Enterotypes which are not strictly separated. The effects that gut microbiota produces can be divided into metabolic and immunological.

Polyphenols are a structural class of natural, synthetic and semi synthetic, organic chemicals characterized by the presence of large multiples of phenol structural units. They are secondary metabolites of plants in which they have multiple roles, and found in some insects and crustaceans and are known for there use as a color in the textile and food industries. Thir attributes are associated to anti-carcinogenic, anti teratogenic, anti inflammatory, antimicrobial, antiallergic and many other effects. Certain doses of some polyphenols may modify the microbiota composition by stimulating or inhibiting the growth of certain bacteria.

Intestinal dysbiosis or microbial imbalance refers to disruption of the natural balance of microorganisms in the digestive tract. Specific dysbiosis are associated with obese people, patients suffering from type 2 diabetes, adolescents with high risk for type 1 diabetes, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, diarrhea associated with Clostridium difficile, colorectal carcinoma.

Today nutritional components such as probiotics, prebiotics, symbiotics are more and more explored and introduced into clinical pratice. A wide range of positive effects are opening up the possibilities of lowering the risk of some chronic diseases by consuming foods rich in polyphenols. So far, most research is conducted with quercetin, resveratrol, catechins and flavones from tea, curcumin, rutin and soybeans.

Probiotics are preparations of living microorganisms that have beneficial effects on the host by improving its intestinal microflora balance, strengthening the intestinal barrier and enhancing the local immune response. The mechanism of action is not yet completely clear, despite that because of their direct effect on mucosal healing probiotics are becoming an option in therapy.

Key words: microbiota , poliphenols, dybiosis, probiotics

3.UVOD

3.1 MIKROBIOTA

"Drugi mozak" je izraz koji je Michael D.Gershon iznio u istoimenoj knjizi (*"The second brain"*) kojim je htio naglasiti da crijevo ima vlastiti autonomni živčani sustav. Iako je taj sustav neovisan, on preko hormona, neuralnih i imunoloških medijatora komunicira sa središnjim živčanim sustavom, a u nedostatku dobre komunikacije nastaje cijeli niz zdravstvenih problema. Prepoznajemo ih kao grčeve, proljeve, opstipacije, promjena raspoloženja. Osim enteralnog živčanog sustava izraz „Drugi mozak“ obuhvaća i ogroman broj mikroorganizama koji žive u našim probavnom traktu i komuniciraju s njim (Gershon et al., 1999).

Mikroorganizmi koji nastanjuju dijelove ljudskog tijela (koža, dišni trakt, probavni trakt, urogenitalni trakt) nazivaju se skupno *mikrobiom*, a *crijevna mikrobiota* je naziv za skup organizama koji koloniziraju probavni trakt i u ovom se radu naziv mikrobiota odnosi samo na njih. Većinu mikrobiote čine bakterije, 90%, dok se 10% odnosi na ostale eukariotske organizme (npr. gljivice). Gotovo su sve bakterije u crijevnoj mikrobioti anaerobi.

Na temelju analiza procijenjeno je da humani probavni trakt nastanjen velikim brojem raznovrsnih bakterija koji varira od 1000 u proksimalnom dijelu crijeva, do čak sveukupno 100 milijardi po mililitru bakterija prisutnih u kolonu. Ukupan broj bakterijskih stanica u ljudskom crijevu deset puta nadilazi ukupan broj svih stanica organizma, a ovisno o metodi detekcije procijenjeno je ih nastanjuju 400-150 bakterijskih vrsta (Tablica 1.). Uspostava ekološkog sustava crijevne mikroflore počinje s rođenjem, a njen dinamičan razvoj ovisi o raznim čimbenicima u okolišu tijekom djetinjstva i u odrasloj dobi. Prednost kod uspostave dobre mikroflore se daje vaginalnom i terminskom porodu, dojenju i izlaganju mikroorganizmimi od rane dobi, suprotno tome porod na carski rez, prijevremeni porod, dohrana i terapija antibioticima imaju negativan učinak. U dobi od 3 tjedna do 1. godine u probavnom traktu djeteta se nalaze *Bacteroides, Staphilococcus, Lactobacillus, Bifidobacteria, Clostridium*. Već nakon toga, od 1. do 7. godine se počinje formirati mikroflora odrasle osobe da bi se do 18. godine uspostavio stabilni odnos *Bifidobacteria* i *Lactobacillusa* i poslije toga, u odrasloj dobi uspostavila stabilna flora tijekom dužeg razdoblja. Specifičnost zajedničke evolucije i razvoja čovjeka kao domaćina, te njegove mikroflore s druge strane, jest upravo u simbiotskom odnosu koji objema sustavima osigurava

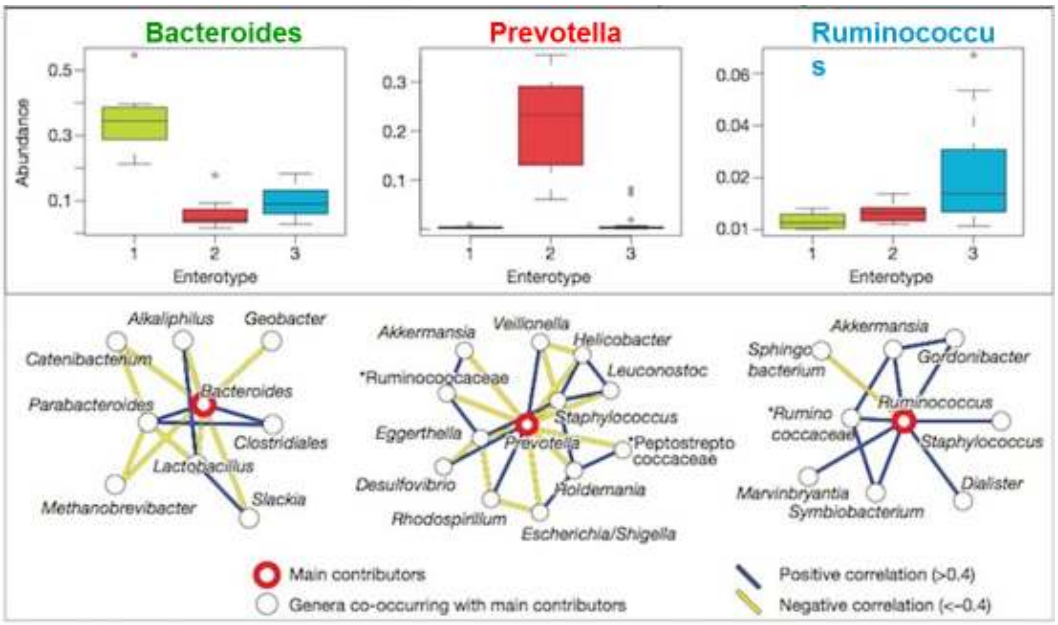
dodatne prednosti u preživljavanju – mikroorganizmi dobivaju stanište i hranjive tvari dok domaćin dobiva dodatni metabolički kapacitet.

Tablica 1. Raspodjela pojedinih bakterijskih vrsta u probavnom traktu

(prilagođeno prema Verbanac i sur. -u pripremi)

Želudac	*Lactobacillus, Streptococcus, Enterobacteriaceae, Bacteroides- Prevotella-Porphyromonas*
Duodenum	*Lactobacillus, Enterococcus, Enterobacteriaceae, Bacteroides- Prevotella-Porphyromonas*
Ileum	*Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas, Enterococcus, Lactobacillus, Enterobacteriaceae*
Colon	*Bifidobacteria, Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas, Enterobacteriaceae, Enterococcus, Lactobacillus, Clostridium, Fusobacterium, Veillonella, Staphylococcus*

Unapređenje prijašnjih i razvitak novih metoda istraživanja je uvelike pridonijelo novim spoznajama o simbiotskom odnosu crijevne mikroflore i čovjeka. Brojne su tehnologije poput filogenetske analize, metagenomike, metatranskriptomika, metaproteomika, metabolomika, metagenomske analize uključuju izravnu analizu gena iz složenih polimikrobnih uzoraka. Analize ovog tipa potrebne su zato što je velika većina tih mikroorganizama teško „uzgojiva“ na klasičnim mikrobiološkim podlogam (Lepage et al., 2013). Zanimljivo, iako su zastupljena samo nekoliko bakterijskih super carstava (46% *Firmicutes*, 20% *Actinobacteria*, 16% *Proteobacteria*, 12% *Bacteroidetes*) njihov sastav varira između pojedinih osoba i vrlo je karakterističan za svakog pojedinca (Ley RE, 2006). Zasad su otkrivena tri osnovna simbiotička stanja ravnoteže mikrobiote i domaćina pa su dogovorno određena tri osnovna tipa sastava mikrobiote (prema variaciji jednog od tri roda *Bacteroides, Prevotella, Ruminococcus*) koji se nazivaju Enterotipovima (slika 1). Važno je naglasiti da oni nisu striktno odvojeni. Također geografsko podrijetlo, tjelesna masa, spol ili starost ne utječu na tip mikrobiote (Arumugan, 2011).



Slika 1. Enterotipovi bakterijskih carstava I, II, III najčešće zastupljenih kod čovjeka; (*prilagođeno prema Arumugan, 2011)*

Sastav mikrobiote podložan je raznim čimbenicima stoga je i promjenjiv.Ti čimbenici mogu podjeliti na unutarnje i vanjske. Unutarnji su dostupnost nutrijenata, tip prehrane, pH u crijevima, redox potencijal, proljev, bakterijski antagonizam, bakterijska kooperacija, mucini, lizozimi, defensini. Od vanjskih čimbenika treba istaći terapiju antibioticima, pretjerana higijena, emocionalni stres, starenje, putovanje, poremećaji peristaltike, kirurške operacije, bolesti jetre i bubrega, radijacijska terapija, kemoterapija, anemija, poremećaji imunog sustava.

Koja je uloga mikrobiota i gdje leži njena važnost?

Mikrobiota i njena važnost u održavanju energetske ravnoteže je velika. Učinci koje ona polučuje mogu se podijeliti na metaboličke i imunološke. Metabolički učinci vidljivi su kroz regulaciju metabolizma ugljikohidrata, amino kiselina, lipida, sudeluju u lipolizi u jetri, iskorištavanje i regulacija pohrane energije, biosinteze esencijalnih vitamina (K, B1, B2, B3, B6, B12), povećanje razine važnih neurotransmitera čime mogu izravno utjecati na ponašanje (dopamin, serotonin), metabolizam ksenobiotika i lijekova te na kraju procesiranja tvari inače nerazgradivih od strane probavnih enzima poput polifenola. Epitel crijeva, crijevne mikrobiote, urođena i stečena imunost najvažniji su čimbenici u obrani organizma od vanjskih patogena koji u organizam ulaze preko probavnog sustava. Pod pojmom „kolonizacijske otpornosti“ podrazumijeva se zaštita od infekcija koju crijevna mikrobiota pruža domaćinu. To rade kompeticijom za stanište i hranjive tvari u lumenu crijeva, sintetiziraju kratkolančane

masne kiseline, slobodne radikale, bakteriocine i bakteriocinima slične molekule koje izravno djeluju na nadolazeće patogene. Osim toga, učinci su im pojačanje zbijenosti epitelnih stanica u crijevima, povećana proizvodnja sluzi u crijevima i modulacija imunološkog odgovora crijeva kroz citokine.

Posebno se mora istaknuti veza mozga i mikrobiote koji su dvosmjerno povezani kroz neuralne (enteralni živčani sustav, nervus vagus, simpatički i spinalni živci) i humoralne puteve (citokini, hormoni i neuropeptidi). Glavnu ulogu ima enteralni živčani sustav (ENS) jer je on uključen u sve funkcije probavnog trakta. Kad zbog nekih čimbenika dođe do promjene sastava mikrobiote, epitelne stanice to detektiraju i mijenjajući hormonsku sekreciju šalju signale ENS-u. Osim njih dobiva informacije od probavnog endokrinog i imunog sustava. Na drugom kraju, ENS dobiva eferente informacije od mozga kroz simpatičke i parasimpatičke puteve te hormonske puteve. ENS prikuplja dostavljene informacije te potom formulira i šalje svoj odgovor. U zdravih osoba pridonosi regulaciji motorne funkcije, sekreciji i apsorpciji, regulaciji teka, metabolizmu glukoze, modulaciji imunog sustava, sinkronizaciji fizioloških i emocionalnih stanja koje utječu na gastrointesinalni trakt. S druge strane moguće da je u bolesnih osoba (dispepsija, iritabilni kolon, UBC, pretilost, dijabetes, promjene raspoloženja, autizam) promjena u singalizaciji na tom području zapravo u osnovi tih bolesti (Chen et al., 2013). Kako je zasad samo oko 20% crijevnih mikroba ispitano te se doneke upoznalo s njihovim funkcijama očekuje se da će izučavanje ostalih dovesti do puno novih saznanja (Rajilić-Stojanović, 2013).

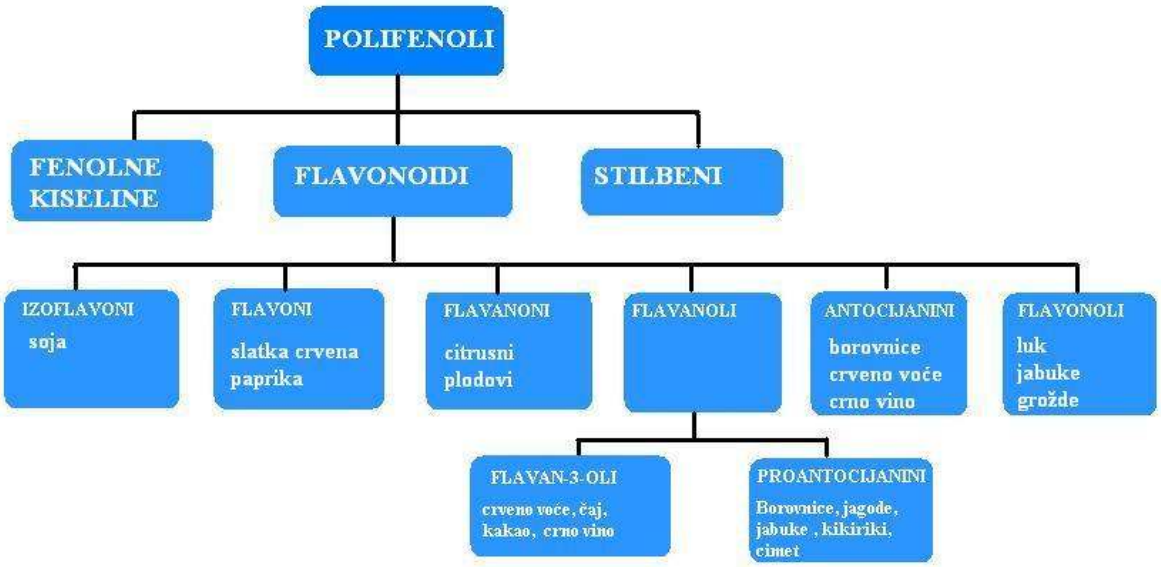
3.2 POLIFENOLI

Vec se stoljećima zna da prehrana bogata voćem i povrćem ima blagotvorne učinke na ljudsko zdravlje. Dugo se smatralo da taj učinak valja pripisati djelovanju antioksidativnih vitamina i karotenoida, supstancama koje su poznate i kao imunomodulatori, a prisutne su u voću i povrću. U posljednje vrijeme sve se intenzivnije istražuju spojevi koji nisu vitamini, a posebno su u fokusu polifenoli, supstance prisutne u brojnim biljkama. Ime je izvedeno iz *poli*, od antičke grčke riječi (*polus*, sa značenjem “mnogi”) i riječi fenol koja se odnosi na kemijsku strukturu formiranu vezivanjem aromatičnog benzenoidnog prstena, i hidroksilne (-OH) grupe, što podsjeća na alkohole (sufiks "ol"). Termin polifenol je u upotrebi od 1894. godine. Polifenoli su grupa spojeva prirodnih, sintetskih i semisintetskih organskih kemijskih tvari koje sadrže veliki broj fenolnih strukturnih jedinica. Broj i karakteristike tih fenolnih struktura su osnova jedinstvenih fizičkih, kemijskih i bioloških (metaboličkih, toksičnih,

terapeutskih, itd.) osobina pojedinih članova polifenolne klase. Polifenoli uključuju više od 8000 spojeva različite kemijske strukture, od jednostavnih hidroksimetilnih kiselina i antocijana (biljni pigmenti) do složenijih flavonoida i tanina čije je osnovno obilježje prisutnost jednog ili više hidroksiliranih benzenskih prstenova dok je svima zajedničko da su topljivi u vodi i staničnoj tekućini. Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka u kojima imaju višestruku ulogu: pružaju senzorska svojstva kao što su boja, aroma ili okus, utječu na otpornost biljke prema bolestima i nametnicima, otpuštanje hormona rasta auksina, te apsorpcijom UV zračenja štite osjetljive stanične dijelove od štetnog zračenja. Također su nađeni u nekim insektima i rakovima a poznata je njihova uporaba kao boje u tekstilnoj i prehrambenoj industriji. Blagotvoran učinak na organizam proizlazi iz sposobnosti vezanja slobodnih radikala (antioksidansi), kelatnog djelovanja (vezanje dvovalentnih kationa) te inaktivacije određenih enzima zbog čega im se pripisuju antikancerogena, antiteratogena, protuupalna, antimikrobna, antialergijska i mnoga druga svojstva (Valls i sur., 2009). Moderna istraživanja prepostavljaju da polifenoli utječu na gensku regulaciju bakterija. Uspoređujući s rezultatima *in vitro*, *in vivo* rezultati su usprkos stalnim istraživanjima ograničeni i nejasni. Mnogi razlozi su za to, od nepostojanja validnih in vivo markera za inflamaciju i karcinogenezu, zatim neobjašnjenih mehanizama djelovanja do primjenjivanja neadekvatnih doza. Neki polifenoli smatraju se antinutrijentima, sastavnicama koje interferiraju s apsorpcijom esencijalni nutrijenta, pogotovo željeza i ostalih metala te se vežu za probavne enzime i ostale proteine i i formiraju netopive protein polifenol komplekse.

Najbrojnija skupina polifenola su flavonoidi, supstance koje najvećim dijelom osiguravaju okus i boju voća i povrća. C.Szent-Gyorgyi, osoba koja je otkrila vitamin C, je prvi izolirao flavonoide 1930. i nazvao vitamin P**.**

Flavonoidi su podijeljeni na nekoliko podgrupa: antocijanini, katehini ili flavanoni, flavoni, flavonoli, flavanonoli, izoflavoni. Flavonoidi koji imaju najsnažnije aktivne čimbenike poput katehina iz čaja, hesperidin iz citrusa, resveratrola iz crnog vina, rutin i kvercetina iz citrusa, izoflavona i piknogenola nazvani su bio flavonoidi. U prirodi se flavonoidi nalaze uglavnom u obliku glikozida tj. povezani su s različitim molekulama ugljikohidrata. Osim ugljikohidrata, supstitucijske skupine koje se nalaze na osnovnoj jezgri su hidroksilna skupina te metoksi-skupina što pridonosi velikoj raznolikosti i velikom broju tih spojeva koji samostalno ili udruženo djeluju antioksidacijski protiv slobodnih radikala te **antikarcinogeno** i **antiupalno djelovanje.**



Slika 2. Pojedine skupine, podjela i izvori polifenola;

(prilagođeno prema Parnham i Verbanac, 2011)

Mnogi polifenolni ekstrakti izolirani iz pojedinih namirnica ili hrane imaju farmakološko djelovanje i utječu na zdravlje. Prodaju se kao prehrambeni suplementi, integrirani sastojci hrane i kozmetika bez pravnih propisa. Zbog njihove raznolikosti nije još moguće iznijeti jasne stavove kako oni utječu na zdravlje, stoga nema ni dogovorenih preporučenih vrijednosti za dnevni unos polifenola.

4. POVEZANOST MIKROBIOTA I POLIFENOLA

„Ima neka tajna veza“

4.1 Probiotici, prebiotici

Prije nego što se pokuša nešto reći o vezi izmedu mikrobiota i polifenola treba pojasniti sljedeće pojmove:

a) Probiotici su živi mikroorganizmi koji pozitivno utječu na održavanje mikrobiološke i imunološke ravnoteže u crijevu. Najčešće potječu iz rodova *Lactobacillus, Bifidobacterium* i *Bacillus.*

b) Prebiotici predstavljaju nerazgradive sastavnice hrane koje potiču rast i/ili aktivnost povoljnih crijevnih bakterija. Najpoznatiji su ksilitol, sorbitol, manitol,inulin, laktuloza, laktitol, rafinoza, oligofruktoze, galakto-oligosaharidi palatinoza, laktosaharoza, škrob otporan na glikolitičke enzime, oligosaharidi majčinog mlijeka

4.2 Povezanost mikrobiote i polifenola

Biološka svojstava polifenola iz namirnica uvelike ovise o njihovoj bioraspoloživosti dok ona uvelike ovisi razina polimerizacije. Procjenjuje se da je dnevni unos oko 10-100 mg. (Aguirre et al., 2011). Mikrobiota probavnog trakta ima veliku ulogu u modulaciji proizvodnje, bioraspoloživosti i time biološke aktivnosti fenolnih metabolita. Nakon ingestije tijelo prepoznaje polifenole kao ksenobiotike čime je njihova bioraspoloživost relativno niska u usporedbi s mikro i makrotvarima koje su unesene hranom. Nadalje ovisno o razini njihove strukturne složenosti i polimerizacije, polifenoli će biti apsorbirani u tankom crijevu (monomeri i dimeri) ili će stići nepromijenjeni do debelog crijeva (oligomeri i polimeri). Samo 5-10% polifenola bude glikozilirano i apsorbirano u tankom crijevu. Nakon apsorpcije, manji spojevi će ići dalje u Fazu I (oksidacija, redukcija, hidroliza) i Fazu II (konjugacija) biotransformacije u enterocitima gdje će postati vodotopljivi metaboliti koji će brzo biti distribuirani sistemnom cirkulacijom do organa. Ostatak nepromijenjenih polifenola (90- 95% ukupnih polifenola) nakuplja se u debelom crijevu i tamo zajedno s konjugiranim žučnim

kiselinama bude podloženo enzimima mikrobiota. Tako su mikrobiota kolona odgovorna za razgradnja polifenola na niskomolekularne fenolne metabolite. Iako je procijenjen velik broj mikrobiotskih vrsta u probavnom traktu samo su neke bakterijske vrste poistovjećene s metabolizmom polifenola kao što su *Escherichia coli*, *Bifidobacterium spp., Lactobacillus spp., Bacteroides sp., Eubacterium spp*.. Interindividualne razlike u sastavu mikrobiota su velike, uz njih intraindividualne razlike u dnevnom unosu polifenola mogu dovesti do razlika u bioraspoloživosti i učincima polifenola i njihovih metabolita. Nastali derivati polifenola mogu biti apsorbirni ili izbačeni fecesom. Kad su apsorbirani dolaze do portalne vene gdje prolaze kroz razne procese Faze II (glukuronidacija, metilacija, sulfonacija) sve dok ne uđu u sistemski krvotok putem kojeg budu dostavljeni organima ili eliminirani urinom. Kako *Firmciuties* sadrže dosta manji broj glikan razgrađujućih enzima nego *Bacteroidetes* dalo bi se pretpostaviti da unos različitih polifenola mogao premodulirati sastav mikrobiote. Postoje dokazi da određene doze nekih polifenola mogu modificirati sastav tako da potiču ili inhibiraju rast određenih bakterija (Lee et al., 2006). Istraživanja su pokazala da katehin blago inhibira rast *Clostridium histolyticum* i potiče *E. coli*, *Clostridium coccoides –Eubacterium rectale* dok *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* spp. ostaje nepromijenjen. Proantocijanini iz crvenog vina ima sličan učinak mijenjajući predominaciju vrsta *Bacteroides*, *Clostridium* i *Propionibacterium spp*. u predominaciju *Bacteroides*, *Lactobacillus* i *Bifidobacterium spp*. U studiji gdje su davali ekstrakte proantocijanina iz sjemenka grožđa odraslim osobama kroz 2 tjedna pokazan je zamjetan rast broja bifidobakterija (Dolara et al., 2005). Osim proantocijanina porast bifidobakterija dokazale su *in vivo* studije (Tzounis et al., 2011 ; Molan et al., 2011; Viveros et al., 2011) s flavanolima iz čokolade, zelenog čaja i ribizla. Istraživanja s štakorima su pokazali da tanin povećava broj *Bacteroides* i znatno smanjuje *Clostridium leptum*.

Konzumacija crvenog vina pokazala je porast broja bakterija iz roda – *Enterococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides uniformis*, *Eggerthella lenta* i *Blautia coccoides-E.rectale* (Queipo-Ortuño et al., 2012). Nasuprot tomu, pokazalo se da nakon konzumacije fenola iz raznih čajeva rast patogenih bakterija poput *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* i *Bacteroides* spp. bio znatno suprimiran (Vendrame et al., 2011). Slične učinke je pokazala konzumacija šumskog voća. Iako se još ne zna točan mehanizam njihova djelovanja pretpostavlja se da utjecaj polifenola na bakterijski rast i metabolizam ovisi o strukturi polifenola, primljenoj dozi i vrsti mikroorganizama.

Zasad je otkriveno nekoliko mogućih mehanizama. Mogu se primiti za membranu ili stijenku bakterije i tako ometati njenu funkciju. Katehin djeluje na različite vrste (*E. coli*, *Bordetella*

bronchiseptica, *Serratia marcescens*, *Klebsiellapneumonie*, *Salmonella choleraesis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*) tako da generira hidrogen peroksid i mijenja permeabilnost mikrobne membrane (Haslam et al., 1992). *S.aureus* izložen epikatehin galatu (ECg) podebljava debljinu stijenke što ga čini otpornijima na antibiotik. Pokazano je da izloženost polifenolima mješa s proizvodnjom signalnih molekula koje potiču rast a otpuštaju *E. coli*, *Pseudomonas putida* i *Burkholderia cepacia* (Hubert et al., 2003). S druge strane polifenoli crvenog vina i zelenog čaja inhibiraju VacA toksin (važan faktor virulencije) *Helicobacter pyloria* time smanjujući proliferaciju i povećanje osjetljivosti bakterijske membrane čineći ih osjetljivijim na antibotike (Tombola et al., 2003). Kvercetin se veže za GyrB podjedinicu of *E. coli* inhibirajući aktivnost ATPaze dok katehini inhibiraju DNA girazu vežeći se ATP vezivno mjesto (Plaper et al., 2003; Gradišar et al., 2007). Oboje time sprječavaju sintezu DNA i RNA. Iz svega navedenog može se zaključiti daje odnos između polifenola i mikrobiota je dvosmjeran. Nedavne studije sugeriraju da polifenoli koji su uneseni hranom i njihovi metaboliti kroz razne selektivne prebiotičke efekte i antimikrobne aktivnosti protiv patogenih bakterija mogu modulirati i uzrokovati fluktuacije u sastavu mikroflore. Iako se ne zna točan mehanizam smatra se da te promjene pridonose zdravlju domaćina (Cardona et al., 2013).

5. BOLESTI POVEZANE S DISBIOZOM

"Sve bolesti počinju u crijevima"

Hipokrat 460 god pr.Kr.

Prije više od 10 godina uveden je koncept o disbiozi crijeva u istraživanju bolesti vezanim za probavni trakt. Disbioza ili disbalans crijevne mikroflore je pojam koji označava narušavanja prirodne ravnoteže mikroorganizama u probavnom traktu. To znači da su patogene bakterije brojčano prevladale one koje nose ravnotežu i donose benefit, što dovodi do narušavanja crijevne barijere. Kako su mikrobiota odgovorni za dio regulacije imunog odgovora njihovo narušavanje posljedično dovodi do simptoma koji mogu varirati od običnog šmrcanja preko opstipacije do depresije. Osobe koje imaju nisku razolikost bakterija skloniji su debljanju i upali nego oni s visokom raznolikosti (Fang & Evans, 2013). Specifične disbioze su povezane s pretilim osobama, pacijentima koji boluju od diabetesa tip 2, adolescentima s visokim rizikom za diabetes tip 1, sindromom iritabilnog kolona, upalnim bolestima crijeva, proljev

povezan s *Clostridium difficile*, kolorektalnim karcinomom (Rajilić-Stojanović, 2013). Prijašnje spomenuti čimbenici dovode do narušavanja ravnoteže ali ovdje se stavlja naglasak na prehranu, pogotovo "Zapadnjački tip prehrane". Zapadnjački tip prehrane uključuje velike količine mesa, jaja, mlijeka i mliječnih proizvoda, zatim namirnice bogate bijelim brašnom i šećerom te velike količine gaziranih pića, a male količine svježeg povrća i voća. Sve navedene namirnice, koje se u ovom tipu prehrane konzumiraju u većim količinama, razgradnjom daju proizvode koji zakiseljavaju organizam. Smatra se da naša mikroflora još nije adaptirala na takav način prehrane (Leone, Chang, Devkota, 2013).

Pretilost i prekomjerna tjelesna masa u posljednjem desetljeću su postala globalni problem te su peti vodeći rizik smrti. Posebno zabrinjava porast prevalencije pretilosti u djece. Pretilost nastaje uslijed promjena u energetskoj ravnoteži tj. u regulaciji unosa, potrošnje i pohrane energije dobivene konzumacijom hrane. Prekomjerna tjelesna masa predstavlja veliki rizik za razvoj niza kroničnih bolesti, od diabetesa tipa 2, kardiovaskularnih bolesti, metaboličkog sindroma do artritisa. Metabolički sindroma je skup poremećaja koji uključuje hipertenziju, hiperlipidemiju, neosjetljivost na inzulin i trbušni ili visceralni tip debljine. Sve više je dokaza kako pretilost također predstavlja neovisan čimbenik rizika u razvoju mnogih kroničnih degenerativnih i malignih oboljenja, od hepatocelularnog karcinoma, ezofagealnog adenokarcinoma, kolorektalnih karcinoma do raka dojke i cervikalnog karcinoma. Danas se smatra da je pretilost kronična perzistirajuća upalna bolest karakterizirana niskom razinom upalnih procesa. Visceralno masno tkivo prepoznato je kao primarni čimbenik u razvoju metaboličkih bolesti i neosjetljivosti na inzulin. Rizik pri nastajanju dijebetesa tipa 2, djelomično se pripisuje činjenici da masno tkivo luči različite čimbenike, uglavnom proteine, uključujući adipokine, citokine, kemokine i slobodne masne kiseline, koji ometaju inzulinski signal i mijenjaju inzulinom regulirane procese, kao što su homeostaza glukoze i metabolizam lipida. Proupalno djelovanje pokazuju TNF-α, leptin citokini TNF- α, IL-6, MCP-1 i IL-1 te makrofazi dok antiupalno djelovanje pokazuje adiponektin, čija je razina negativno korelirana s tjelesnom težinom (*pregledni rad* Verbanac i sur. 2011). Prema Le Chatelieru neke bakterije su jače povezane s debljanjem nego druge. Veliko istraživanje provedeno je u Danskoj gdje sudjelovalo 169 pretiilih i 123 osoba normalne težine (Le Chatelier , 2013). Rezultati su pokazali dvije skupine –jednu s niskom (LGC) i jednu s visokom genskom raznolikočću (HCG) u probavnom traktu. U LGC su dominanti bili *Bacteroides, Parabacteroides, Ruminococcus, Campylobacter, Dialister, Porphyromonas, Staphylococcus, Anaerostipes*, dok su u HCG dominanti bili *Faecalibacterium, Bifidobacterium,, Lactobacillus, Butyrivibrio, Alistipes, Akkermansia, Coproccocus i Methanobrevibacter.*

LCG su imali povišeni leptin u serumu, sniženi adiponektin u serumu, rezistenciju na inzulin, hiperinzulinemiju, povišene trigliceride, snižen HDL kolesterol i povišene markere upale nego ovi s visokom raznolikoščću. Također je pokazano da je povećano uzimanje životinjskih proteina i visoko zasićenih šećera povezano s rastom *Bacteroidesa*, dok je na biljkama zasnovana prehrana je bila povezana s rastom *Prevottele* (Le Chatelier, 2013). Upravo to potvrđuje i Cotillard u čijem istraživanju 40% ispitanika koji su bili pretili imali su nisku gensku raznolikost i sklonost metaboličkom sindromu. Osim toga u ovom istraživanju je 6 tjedana dijete i 6 tjedana održavanja smanjene tjelesne težine dovelo do povećanja raznolikosti. To povećanje bilo korisno onima koji su vec imali visoku raznolikost što znači da raznolikost bakterija ovisi o pojedincovom odgovoru na dijetu (Cotillard et al., 2013). Pokazana povezanost izmedu mikorbiota i patofiziologije bolesti predstavlja mogućnost da se prema bakterijskim genima razlikuju zdrave i bolesne pretile osobe i oni koji će reagirati na terapiju od onih koji neće. Takvo razvrstavanje bi bilo dobro da se mikorbioti koriste kao markeri za upalu (Fang & Evans, 2013).

Upalne bolesti crijeva (UBC) , uključuju Chronovu bolest (CB) i Ulcerativni kolitis (UC), je grupa sličnih bolesti karakteriziranih autoimunim upalnim procesima u probavnom traktu, kroničnog karaktera, najčešće u tankom i debelom crijevu. Incidencija i prevalencija sve više raste u zapadnim zemljama. Središnju ulogu u upali predstavlja neravnoteža između proupalnih citokina (TNFα, IFNγ, IL-1, IL-6, IL-12) i antiupalnih citokina (IL-4, IL-10, IL-11). Danas se smatra da bolest kombinacija genetske predispozicije i vanjskih čimbenika (prehrana, pušenje, lijekovi) koji dovode do promjene u sastavu crijevne mikroflore (Leone, Chang, Devkota, 2013). Najviše zahvaćeni upalom su dijelovi crijeva gdje se nalaze najviše bakterija. To potvrđuju nalazi da *germ free* miševi ne razvijaju kolitis i da je relaps postoperativne CB i pouchitisa brži nakon ponove uspostave stolice. UBC (upalne bolesti crijeva) pacijenti pokazuju reducirane količine inače dominatnih komenzalnih bakterija *Firmicutes* i *Bacteriodetes* i povišene razine *Proteobacteria* i *Actinobacteria*. To se i povezuje s nalazima smanjenih količina kratkolančanih masnih kiselina koje imaju zaštitinički učinak (inhibiraju upalne citokine, povećavaju produkciju mucina i antimikrobih peptida te pružaju energiju koloncitima). Među *Firmicutesa*, redukcija *Faecalibacterium prausnitzii* se pokazala kao čest nalaza u pacijenata s CB. U velikom istraživanju gdje je kontrolnu skupinu predstavljala zdrava rodbina pacijenta s CB nađeno je da CB pacijenti pokazuju redukciju *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Dialister invisus* dok je bio povišen broj bakterija povezanih s degradacijom mucina poput *Ruminococcusa* (Scaldafferi et al., 2013). Disrupcija epitelne barijere u crijevima povećava permeabilnost, pa proupalne

komponente bakterija izazivaju kroniču upalu u epitelu (Hur et al., 2012). Glavni efekt koji mikroorganizmi imaju na UBC je regulacija citokina IL-10, INF γ, TNF α, antioksidativni učinak i popravak epitelnog oštećenja. Pokazalo se da davanje *Lactobacillus rhamnosus* i *Clostridum butyraticum* štakorima povećava proliferaciju epitelnog oštećenja u tankom crijevu, cekumu i distalnom kolonu, što je najvjerovatnije uzrokovano proizvodnjom kratkolančanih masnih kiselina (Hur et al., 2012). Proizvodnja kratkolančanih masnih kiselina (butirat, propionat, acetat) je konačan produkt fermentacije ugljikohidrata mikrobiota. One pokazuju antiupalna i antikarcinogena svojstva. Prema Rajilić-Stojanović najviše ih proizvode ih *Bifidobacterium spp.* i *Faecalibacterium* koje su pokazale dobrobitni učinak na zdravlje, a redukcija *Faecalibacterium* je marker Chronove bolesti. Prekomjerna produkcija plinova je jedan od simptoma UBC. Porast *Dorea sp.*koja proizvodi hidrogen i ugljični dioksid te porast *Blautia spp.*koja proizvodnjom acetata rješava te plinove je zabilježen u pacijenata s UBC. Poremećena mikroflora nedovoljno transformira primarne žučne kiseline pa UBC pacijenti imaju značajno nižu sintezu konjugiranih i sekundarnih žučnih kiselina koje imaju antiupalni efekt. Modeli na miševima su pokazali da UBC mogu biti potaknute bakterijom *Bilophila wadsworthia* , sulfid reducirajuća bakterija čija produkcija H_2S ima ulogu kod upale crijevnog tkiva (Rajilić-Stojanović, 2013). Incidencija CB je u obrnuto proporcionalnoj korelacijii sa seroprevalencijom *Helicobacter pylory* (Hur et al., 2012). Istraživanja s miševima su čak pokazala da se presađivanjem T limfocita iz bolesnih miševa koji su bili izloženi enteralnim bakterijama kao što *Helicobacter hepaticus* mogu prenijeti bolest u imunodeficijentih domaćina, dok oni koji nisu bili izloženi tim bakterijama nisu doveli do toga. Kolitis povezan s *Bilophila wadsworthia* zahvaća distalni kolon, dok onaj povezan s *E.coli* zahvaća najviše cekum (Leone, Chang, Devkota, 2013). Davanje antibiotika, prebiotika i probiotika miševima s induciranim kolitisom ublažava simptome bolesti (Hur et al., 2012). Iako je dokazana promjena u sastavu mikrobiote u bolesnih osoba i dalje ostaju ova pitanja: Je li disbioza uzrok ili posljedica bolesti? Može li se obnovom mikroflore izliječiti ili barem poboljšati ishod bolesti ?

6. DOBRI UČINCI POLIFENOLA NA MIKROBIOTU

Postoji sverastuća zabrinutost da su promjene koje je donijelo moderno doba, kao što je hrana koja sadrži visoko zasićene masti i hrana s visokim glikemijskim indeksom te ubrzani način prehrane, dovele do disbioze u ljudskoj crijevnoj mikroflori koja pridonosi nastanku bolesti kao što su upalne bolesti crijeva (UBC) i pretilost. Nije svejedno kakvu hranu jedemo. Prema Lawrence (Lawrence et al., 2014), hrana životinjskog podrijetla ima veći učinak na crijevnu mikrobiotu nego hrana biljnog podrijetla. To je pokazalo istraživanje gdje su uspoređivali 10 ispitanika koji su 5 dana *ad libitum* provodili jednu od dviju dijeta, s namirnicama životinjskog podrijetla (meso, jaja, sir) i biljnog podrijetla (grožde, mahune, voće i povrće). Iako su obje dijete imale učinak na metaboličku aktivnost mikrobiota, dijeta s namirnicama životinjskog podrijetla je rezultirala značajno niskim raznima produkata fermentacije ugljikohidrata i sniženjem nivoa saharolitičkih mikroba (*Roseburia*, *E.rectale, F.Prausnitzi.*) te visokim koncentracijama kratkolančanih masnih kiselina i povišenjem proteolitičkih mikroba (*Alistipes putredinis* i *Bacteroides spp.*). Također je dovela do povišenja fekalne deoksikolne kiseline i značajnog gubitka težine dok težina ispitanika na biljnoj dijeti ostala ista iako je dnevni energetski unos bio sličan kao na životinjskoj (Lawrence et al., 2014). Od kratkoročnih promjena u prehrani mikrobiota se mogu obraniti, s druge strane dugoročne promjene u prehrani mogu dovesti do bolesti (Fang & Evans, 2013). Stoljećima se zna da razne namirnice imaju ljekovita svojsta pa se i u modernoj medicini iznova javlja pitanje može li neka namirnica koristiti kao lijek? Primjerice, trenutačno postoje razne dijete i suplementi prehrane kao suportivne terapije kod upalnih bolesti crijeva, gdje je incidencija malnutrije do čak 85%. Unatoč obećavajućim rezultatima ipak su se pokazali inferiornijim od drugih načina liječenja (kortikosteroidi, imunosupresivi, biološka terapija, operacija) (Yamamoto, 2013). Liječenje pretilosti uključuje kombinaciju dijete, tjelovježbe, modifikaciju ponašanja, psihoterapiju te ponekad lijekove (orlistat, efedrin, kofein) i dodatke prehrani za smanjenje tjelesne mase. Ipak, kod najtežih oblika pretilosti za sada je kao jedina doista učinkovita metoda liječenja pretilosti prihvaćena barijatrička kirurgija koja obuhvaća više različitih kirurških zahvata čime posljedično dolazi do drugačijeg fizičkog i fiziološkog odgovora na hranu. Iako ove metode daju određene rezultate, farmakološke i kirurške intervencije nužno su povezane s nizom rizika i nuspojava.

Stoga se sve veća pažnja posvećuje novim, manje agresivnim načinima održavanja tjelesne težine preko modulacije funkcioniranja probavnog sustava (*pregledni rad* Verbanac i sur.

2011). Svejedno, iako se nisu pokazali kao samostalan lijek ne smiju se zanemariti dokazani pozitivni učinci određenih namirnica i spojeva kod nekih bolesti**.** Tako se danas sve više istražuju i uvode u kliničku praksu nutritivne sastavnice poput probiotika, prebiotika i simbiotika. Dokazan je široki spektar pozitivnih učinaka polifenola na ljudsko zdravlje kao što je antiupalno, antioksidacijsko, anitkarcinogeno, antidiabetičko i neuroprotektivno djelovanje. Ta saznanja otvaraju mogućnosti snižavanja rizika za neke kronične bolesti konzumacijom namirnica bogatih polifenolima.

Kvercetin, kralj flavonoida, smatra se pretečom i predstavnikom svih bioflavonoida zbog toga što je njegova kemijska struktura osnovni "kostur" većine drugih bioflavonoida. *In vitro* studije s adipocitima su pokazale da kvercetin djeluje na lipogenezu indirektno preko inzulina i direktno preko ekspresije gena, sudjeluje u redukciji triglicerida u adipocitima, te reducira broja adipocita. Istraživanja s pretilim miševima su pokazala da reducira markere upale poput IFN-γ, TNF-α, IL-1 i IL-2 (Parnham i Verbanac, 2011). Dugoročno uzimanje kvercetina snižava tjelesnu težinu, nakupljanje masti u jetri, poboljšava hiperglikemiju, hiperinzulinemiju, dislipidemiju. Pokazano je kvercetin ima dobrobitne učinke na zdravlje diabetičara. *In vitro* studije i studije na miševima s dijabetesom su pokazale da poboljšava razinu glukoze u krvi reducirajući apsorpciju, štiti gušteraču od oksidativnog stresa induciranog H_20_2 i poboljšava osjetljivost na inzulin (Aguiree et al. 2011).

Resveratrol nađen u grožđu, crvenom vinu i bobičastom voću. Pokazao je u mnogim istraživanjima svoj pozitivan učinak protiv pretilosti inhibirajući diferencijaju preadipocita, smanjući proliferaciju adipocita, induciranjem apoptoze adipocita, smanjivanjem lipogeneze i poticanjem lipolize i β-oksidacije masnih kiselina. Uz to značajno snižava aktivaciju NF-kB i ekspresiju IL-6 i TNF-α (faktori upali kod upale iz masnog tkiva) i time reducira upalni odgovor u masnom tkivu. Primjena resveratrola inhibira oksidativni stres i poboljšava antioksidativnu obranu (Parnham i Verbanac, 2011). U istraživanju s pacijentima na statinima zbog visokog rizika i primarne prevencije od kardiovaskularne bolesti je jednogodišnje uzimanje 1 kapsule Stilvida na dan (suplement 8 mg resveratola iz grožđa) je dovelo do poboljšanja u upalnom i fibrinolitičkom statusu (Wang et al., 2014). Kvercetin pomaže resverastrolu da poveća bioraspoloživost (Aguiree et al., 2011).

Čaj (*Camellia sinensis),* piće čija je konzumacija opisana još 2700 godina pr.Kr. , oduvijek je bio poznat po svojim terapetuskim učincima. Znanstvenici i dalje otkrivaju njegova dobra svojstva. Listovi zelenog i crnog čaja sadrže flavonoide od čega su katehini i flavoni nabrojniji. Najbrojniji katehini su EGCG, EGC, ECG, EC. Katehini, posebno EGCG kojeg ima i najviše pokazao je poput resveratrola pozitivan učinak protiv pretilosti inhibirajući

diferencijaciju preadipocita, smanjući proliferaciju adipocita, smanjivanjem lipogeneze i poticanjem lipolize i β-oksidacije masnih kiselina. Uz to, EGCG reducira ekspresiju resistina (upalni adipokin kojeg se povezuje s neosjetljivost na inzulin i povećanim kardiovaskularnim rizikom) i tako reducira upalni odgovor u masnom tkivu (Wang et al., 2014). Testiranja na životinjama su potvrdila antioksidacijski i detoksifikacijski učinak zelenog čaja značajno visokom aktivnošću glutation S transferaze, katalaze i kvinon reduktaze u plućima, jetri i tankom crijevu. U bolesnika s UBC je pokazano da ublažava upalu mukoze inhibirajući TNFα, IFNγ, NF-κB. Aflavin monogalat i katehini reduciraju ekspresiju COX-2 gena čiji su produkti enzimi koji su vrlo aktivni na mjestima upale (Parnham i Verbanac 2011; Hur et al., 2011). Zeleni čaj u kombinaciji s kofeinom još jače stimuliraju termogenezu u smeđem masnom tkivu tako da prolongiraju stimulirajući efekt noradrenalina na lipide (Trigueros et al., 2014). Preporučeno je da se ekstrakti zelenog čaja uzimaju u dozi od 300-400 mg dnevno tj. ne više od 3 šalice dnevno zbog mogućih nuspojava kao što su nervoza, nesanica, tahikardija i povišenje kiseline u želudcu. Također u nekih izaziva alergijske reakcije, a u djece su se javljali slučajevi anemije.

Kurkumin, žuti polifenoli biljke kurkuma ili indijskog šafrana, *Curcuma longa*. Najrašireniji je začin u Indiji gdje je potrošnja po stanovniku 100 mg/dan. Poznato je da snažan antioksidans jer inhibira COX-2, lipoksigenazu i NF-κB (Hur et al., 2012). Slično resveratrolu i zelenom čaju pokazao je u mnogim istraživanjima svoj pozitivan učinak protiv pretilosti inhibirajući diferencijaciju preadipocita, smanjući proliferaciju adipocita, smanjivanjem lipogeneze i poticanjem lipolize i β-oksidacije masnih kiselina. Uz to inhibirajući NF-kB reducira upalni odgovor u masnom tkivu. Mnoga istraživanja na životinjama su pokazala da kurkumin snižava tjelesnu težinu, sintezu triglicerida, povećava bazalni metabolizam. Osim navedenog, opisana su i antifungalna i antibakterijska svojstva (Wang et al., 2014).

Rutin koji se nalazi u biljakama poput heljde, peršinu, rajčici i marelici je jedan od najraširenijih flavonoida. Pokazao je svoj terapeutski učinak kad je kod miševa s induciranim kolitisom ublažio gensku ekspresiju proupalnih čimbenika, pogotovo IL-1β i IL-6. Uz to se pokazao dobrim kao profilaksa kad se uzimanje čak malih doza rutina prehranom smanjila prozvodnja IL-1β i IL-6, faktora koji stimuliraju makrofage i granulocite i iNOS (Hur et al., 2012).

Soja (lat. *Glycine max*) je biljka mahunarka visoke hranjive vrijednost koja se u Kini uzgaja preko 13000 godina. Zasad je se pokazala dobre rezultate kod snižavanja tjelesne težine samo u životinja. Međutim brojne studije su pokazale blagotvorne učinke na druge metaboličke

parametre. U studiji gdje su žene u postmenopauzi uzimale suplemente soje je došlo do snižavanja LDL i triglicerida.

Hrana bogata polifenolima je osjetljiva na razne kemijske i fizičke čimbenike kod pohrane i obrade. Već sada postoje nova rješenja kao što su inkaspulacija, reformulacija hrane i promjena procesa obrade (Trigueros et al., 2013). Unatoč tome polifenoli imaju i nisku oralnu bioraspoloživost te je bitan stupanj njihove polimerizacije pri čemu crijevna mikroflora ima jednu od glavnih uloga.

7. PROBIOTICI KAO POMOĆ U TERAPIJI

Probioti su pripravci živih mikroorganizama koji imaju pozitivne učinke na domaćina poboljšavajući mu ravnotežu crijevne mikroflore, ojačavajući crijevnu barijeru i poboljšavajući lokalni imunološki odgovor. Mehanizam djelovanja je zasad još nije potpuno jasan, usprkos tome zbog direknog efekta na cijeljenje mukoze probiotici postaju opcija u terapiji. Stoga je važno odrediti koje su probiotičke vrste najučinkovitije, jesu li djelotvornije same ili u kombinaciji s prebioticima i koje im je poluvrijeme života u probavnom traktu (Scaldafferi et al., 2013). Za probiotičku terapiju u pravilu se upotrebljavaju dvije skupine mikroorganizama. Prvu skupinu čine bakterije mliječne kiseline (*Lactic Acid Bacteria* – LAB). U ovoj skupini nalaze se gram-pozitivne bakterije sa strogo fermentativnim metabolizmom. Metabolički proizvod je mliječna kiselina koja ima zaštitno, tj. antimikrobno djelovanje. Prirodni okoliš za ove bakterije čine ljudi, životinje i biljke. Najveći dio bakterija iz ove skupine dugo se već primjenjuje i mogu se općenito smatrati sigurnima. Među njima najčešći su rodovi bifidobakterije, laktobacili i laktokoki. Drugu skupinu probiotičkih bakterija čine rodovi koji se ne mogu općenito smatrati sigurnima. Najčešće su posrijedi neki nepatogeni sojevi bakterije Escherichije coli. Takvi nepatogeni sojevi *E.coli* u nekim su pokusima pokazali osobine probiotičkih bakterija – smanjili su učestalost proljeva ili alergijskih manifestacija na koži, ublažili su tijek bolesti u upalnoj bolesti crijeva, smanjili su kolonizaciju bakterija u crijevu nedonoščadi. *Clostridium butyricum* ima probiotičko djelovanje zbog sposobnosti stvaranja maslačne kiseline. Upravo je maslačna kiselina važan izvor energije za crijevni epitel, a posjeduje i jaku protuupalnu aktivnost (www.plivazdravlje.hr). Sadašnji dokazi pokazuju jasan klinički učinak nekih obitelji

probiotika samo kod pouchitisa i ulcerativnog kolitis ali ne i kod Chronove bolesti. Takav učinak je povezan kod blagih bolesti i ima veću ulogu kod održavanja remisija nego kod uvođenja u remisiju. Više studija je pokazalo dobrobitne učinke VSL#3 (Proximum d.o.o) (*Bifidobacterium breve, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus*) u pacijenata sa ulcerativnim kolitisom i pouchitisom. VSL#3 je odobren za prevenciju i održavanje remisije kod pouchitisa (Scaldafferi et al., 2013). Postoji malo dokaza za korištenje probiotika u terapiji Chronove bolesti. Pokazano je da su jako efikasni kod prevencije i liječenja pouchitisa poslije kolostomije (Yamamoto 2013). Probiotici svoj antiupalni učinak u pacijenta s UBC najvjerovatnije ostvaruju inducirajući proizvodnju IL-10 i smanjući proizvodnju INF-γ i TNF-α. *Lactobacillus rhamnosus GG* i *Clostridium butyricum* proizvode kratkolančane masne kiseline i tako potiču proliferaciju epitelnih stanica što pomaže kod cijeljenja oštećenog epitela. Mnogi su probiotici pokazali indirektno suprimirajuće djelovanje na NF-κB čija transkripcijska aktivnost aktivira brojne proupalne medijatore. To se slaže s zapažanjima da davanje jogurta s *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* dovodi do sniženja upalnih citokina IL-17 i IL-12. Također se smatra da probiotici podešavaju slojeve sluznice povišavajući otpuštanje defenzina, mucina te klodina i okludina (proteini važni za čvrste spojeve u zidu sluznice) (Hur et al., 2012). Nekoliko studija je pokazalo da neapsorbirani ugljikohidrati kao što su inulin i fruktooligosaharidi potiču rast povoljnih vrsta *Bifidobacteriuma* i *Lactobacillusa.* Ti prebiotici im služe kao supstrat za proizvodnju kratkolančanih masnih kiselina. Kratkolančane masne kiseline, pogotovo butirat potiču regeneraciju i poboljšavaju crijevnu *barijeru* (Leone, Chang, Devkota, 2013). Istraživanje na 19 pacijenta s ulcerativnim kolitisom i na terapiji mesalazinom je pokazalo da oni koji su dobivali inulin imali niži fekalni kalprotektin (upalni marker) nego oni koji su primali placebo (Scaldafferi et al., 2013).

U studiji s miševima pokazano je da se modifikacijom crijevne mikrobiote promijenio metabolizam masti u jetri što je rezultiralo smanjenjem razine lipoproteina u plazmi i stimulacijom glikolize te dodatnom promijenom različitih metaboličkih putova, uključujući metabolizam aminokiselina, metilamina i kratkolančanih masnih kiselina. Također je pokazano da laktobacili i kod ljudi i kod glodavaca smanjuju razinu kolesterola, vjerojatno lučenjem bakterijskih hidrolaza žučnih soli te tako umanjuju reapsorpciju kolesterola iz crijeva. Kod ljudi s povišenim indeksom tjelesne mase 12-tjedna primjena tog istog probiotika dovela je do ukupnog smanjenja tjelesne mase, smanjenja volumena abdominalnog masnog tkiva te do povišenja razine adiponektina u serumu, tj. do učinaka koji su vjerojatno

posljedica smanjene apsorpcije lipida i upalnog statusa u organizmu. Simbiotici poput kombinacije laktobacila s manitolom, oligofruktozom ili inulinom, doprinose snižavanju rezine triglicerida u plazmi, ukupnog te LDL-kolesterola u modelu hiperkolesteremije u svinja. Vrlo obećavajući rezultati iz nekoliko studija upućuju na činjenicu da upotreba probiotičkih bakterija može dovesti do smanjenja tjelesne mase. Pokazano je da uzimanje soja *Lactobacillus rhamnosus* PL60 tijekom 8 tjedana dovodi do gubitka težine kod hranom udebljalih miševa, bez uočenog smanjenja unosa hrane (*pregledni rad* Verbanac i sur. 2011)

Zapadnjačka medicina je ovakav neizvanzivni koncept bioloških intervencija prihvatila kao važan element u prevenciji bolesti. Najbolji su oni proizvodi koji sadrže veliki broj različitih sojeva. Dobar probiotički proizvod u sebi mora sadržavati velik broj bakterija, kao i sojeve onih bakterija koje nazivamo "dobrim" mikrobiotama. Naime, u bakterijskom svijetu vrijedi princip "isto slijedi isto“ - dobre i korisne bakterije, dok one loše djeluju tako da se okruže sebi sličnim oblicima, štetnim po organizam. Na tržištima danas već postoji raznovrstan izbor, ali se pravi proizvodi očekuju u idućih desetak godina nakon uvida u rezultate trenutno financiranih projekata koji za cilj imaju određivanje optimalnih sojeva za pojedinca. Promatra li se zdravstvena (terapijska) kakvoća nekoga probiotičkog proizvoda, u prvom je redu potrebno istaknuti broj živih stanica probiotika u mililitru ili u gramu proizvoda. Aktivnost bakterija iz kapsula i tableta u ljudskom probavnom sustavu nije jednaka aktivnosti bakterija u fermentiranom mlijeku. Uzimanje probiotika s hranom, uključujući mlijeko, jogurt i druge dijetne proizvode neutralizira želučanu kiselinu i povećava šansu da probiotičke bakterije u crijevu prežive. Stoga veliku važnost ima održivost mliječno-kiselog proizvoda i njegov vijek trajanja (*www.plivazdravlje.hr*)

Postavlja se pitanje mogu li crijevne mikrobiote biti potencijalno nov terapijski pristup i nove mete u razvoju inovativnih lijekova za tretman pretilosti i srodnih metaboličkih bolesti?

Ova zapažanja predlažu mogućnost za dizajn individualne terapije koje ce bit temeljene na genetici, biološkom odgovoru i funkcionalnom profilu mikrobiota pojedinca. Uz to će neki sastojci hrane biti sastavi dijelovi tih terapija (Leone, Chang, Devkota, 2013). Prebiotička i probiotička terapija će se sastojati od bakterijskih sojeva u suplementima koji će pružati željeni sastav mikrobiota u probavnom trakt (Scaldafferi et al., 2013).

8. ZAKLJUČCI

- Uspostava ekološkog sustava crijevne mikroflore počinje s rođenjem da bi do odrasle dobi ukupni broj bakterija 10 puta nadilazio ukupan broj svih stanica organizma. Takav simbiotski odnos između domaćina i njegove mikroflore osigurava objema vrstama dodatne prednosti u preživljavanju – mikroorganizmi dobivaju stanište i hranjive tvari dok domaćin dobiva dodatni metabolički kapacitet.

- Mikrobiota i njena važnost u održavanju energetske ravnoteže je velika. Metabolički učinci vidljivi su kroz regulaciju metabolizma ugljikohidrata, amino kiselina, lipida, sudelovanjem u lipolizi u jetri, iskorištavanjem i regulacijom pohrane energije, biosintezom esencijalnih vitamina , povećanjem razine važnih neurotransmitera čime mogu izravno utjecati na ponašanje, metabolizmom ksenobiotika i lijekova te procesiranja tvari inače nerazgradljivih od strane probavnih enzima poput polifenola.

- Pacijenti sa upalnim bolesti crijeva pacijenti pokazuju smanjene količine *Firmicutes*, *Bacteriodetes, Bifidobacterium adolescentis*, *Dialister invisus* i povišene razine *Proteobacteria, Actinobacteria*, *Ruminococcusa*. Osim tog specifične disbioze su povezane sa diabetesom tip 2, adolescentima s visokim rizikom za diabetes tip 1, sindromom iritabilnog kolona te proljev povezan s *Clostridium difficile*, kolorektalnim karcinomom.

- Prehrambene intervencije imaju pozitivan učinak na gensku raznolikost mikrobiote. Poboljšanje upalnih parametara bolje je kod osoba visoke genske raznolikosti nego niske. Neophodno je stalno održavati ravnotežu dobrih bakterija u našim crijevima U kliničku praksu uvode se nutritivne sastavnice u obliku živih bakterija (probiotici), odnosno tvari (polifenoli) koje pomažu u održavanju mikrobiote.

- Polifenoli uključuju više od 8000 spojeva različite kemijske strukture koji se nalaze u raznom voću i povrću. Kvercetin, resverastrola, katehini i flavoni iz čajeva, kurkumin, soja, rutin su pokazali da kroz razne selektivne prebiotičke efekte i antimikrobne aktivnosti protiv patogenih bakterija mogu modulirati i uzrokovati fluktuacije u

sastavu mikroflore. Osim toga se pripisuju antikancerogena, antiteratogena, protuupalna, antimikrobna, antialergijska i mnoga druga svojstva.

- Upotreba probiotičkih bakterija može dovesti do smanjenja tjelesne mase, te se pokazala djelotvornom kod nekih oblika UBC. Postoje još uvijek izazovi u formulaciji probiotika koja bi omogućila njihovu dostupnost na ciljna mjesta u organizmu, međutim nove tehnologije omogućuju svakodnevni napredak u iznalaženju novih inovativnih rješenja.

9. ZAHVALE

Hvala mojoj mentorici doc.dr.sc. Donatelli Verbanac na zanimljivoj temi, stručnim savjetima, puno pomoći i susretljivosti.
Hvala mojim prijateljima i kolegama na pomoći, podršci i prijateljstvu.
Hvala mojoj obitelji na ljubavi i podršci u svim oblicima tijekom mog studiranja.

U Zagrebu, lipanj 2014.

Ana Marija Mandurić

10. LITERATURA

1. Aguirre L, Arias N,Macarulla MT, Gracia A,Portillo M (2011) Beneficial Effects of Quercetin on Obesity and Diabetes. The Open Nutraceuticals Journal, 4: 189-198
2. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D,Yamada T, Mende D, Fernandes G, Tap J, Bruls T, Batto JM, Bertalan M et al.,(2012) Enterotypes of the human gut microbiome. Nature 473:174–180
3. Cardona F, Andrés-Lacueva C, Tulipani S, J. Tinahones F, Queipo-Ortuño MI (2013) Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. Journal of Nutritional Biochemistry 24: 1415–1422
4. David A. Mark (2011) Dietary Supplement Antioxidants: The Polyphenol Paradox. http://www.nutritionaloutlook.com/1106/Antioxidants/
5. Dolara P, Luceri C, De Filippo C, Femia AP, Giovannelli L, Caderni G, Cecchini C, Silvi S, Orpianesi C, Cresci A. (2005)
   Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative dama ge and gene expressionprofiles of colonic mucosa in F344 rats. Mutat Res, 591:237-46
6. Fang S, Evans R, (2013) Wealth management in the gut. Nature 500 :538–539
7. Gershon M. The Second Brain: A Groundbreaking New Understanding of Nervous Disorders of the Stomach and Intestine.Harper Perennial.1999
8. Gradisar H , Pristovsek P, Plaper A, Jerala R, (2007) Green tea catechins inhibit bacterial DNA gyrase by interaction with its ATP binding site. J Med Chem, 50 : 264–271
9. Haslam E, Lilley T, Warminsk Ei, Liao H, Cai Y, Martin R *et al.* (1992) Polyphenol complexation. A study in molecular recognition. ACS Symp Ser., 8–50
10. http://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/10929/Sto-su-probiotici.html/
11. Huber B, Eberl L, Feucht W, Polster J. (2003) Influence of polyphenols on bacterial biofilm formation and quorum-sensing. Z Naturforsch, 879–884
12. Hur SJ, Kang SH, Jung HS, Kim SC, Jeon HS, Kim IH, Lee JD. (2012) Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease. Nutr Res. 32:801-16.

13. Lawrence AD, Maurice1 C, Carmody R , Gootenberg D, Button J, Wolfe1 B et al. (2014) Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome . Nature 12820

14. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, Almeida M, Arumugam M, Batto JM, Kennedy S, Leonard P, Li J, Burgdorf K, Grarup N,Jørgensen T, Brandslund I, Nielsen HB, Juncker AS, Bertalan M, Levenez F, Pons N, Rasmussen S, Sunagawa S, Tap J, et al. (2013) Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. Nature 500: 541-6

15. Lee H.C, Jenner A.M, Low C.S, Lee Y.K. (2006) Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. Res Microbiol, 157:876-84

16. Leone V, Chang E, Devkota S (2013) Diet, microbes, and host genetics: the perfect storm in inflammatory bowel diseases. J Gastroenterol 48:315–321

17. Lepage P, C Leclerc M, Joossens M, et al. (2013) A metagenomic insight into our gut's microbiome. *Gut* 62: 146-158

18. Molan AL, Liu Z, Tiwari R. (2011) The ability of blackcurrant extracts to positively modulate key markers of gastrointestinal function in rat. World J Microbiol Biotechnol,. 1735–1743

19. Parnham, Verbanac. Mild Plant & Dietary Immunomodulators. U knjizi: Principles of Immunopharmacology. Nijkamp, Parnham (Ed). Springer Basel AG. 2011

20. Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Solmajer T, Jerala R. (2003)Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. Biochem Biophys Res Commun, 306: 530–536

21. Queipo-Ortuño MI, Boto-Ordóñez M, Murri M, Gomez-Zumaquero JM, Clemente-Postigo M, Estruch R, Cardona Diaz F, Andrés-Lacueva C, Tinahones FJ. (2012) Influence of red wine polyphenols and ethanol on the gut microbiota ecology and biochemical biomarkers. Am J Clin Nutr,1323–1334

22. Rajilic-Stojanovic M (2013) Function of the microbiota. Clinical Gastroenterology 27 : 5–16

23. Scaldaferri F, GerardiV, Lopetuso LR, Del Zompo F, Mangiola F, Boškoski I, Giovanni B, Petito V, Laterza L, Cammarota G, Gaetani E, Sgambato A, GasbarriniA (2013) Gut Microbial Flora, Prebiotics, and Probiotics in IBD: Their Current Usage and Utility . BioMed Research International 435268

24. The Human Microbiome Project Consortium (2012) Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature 486
25. Tombola F, Campello S, De Luca L, Ruggiero P, Del Giudice G, Papini E, Zoratti M. (2003) Plant polyphenols inhibit VacA, a toxin secreted by the gastric pathogen *Helicobacter pylori.* FEBS Lett, 184–189
26. Trigueros L, Peña , Ugidos , Sayas-Barberá , Pérez-Álvarez ,Sendra (2013) Food Ingredients as Anti-Obesity Agents: A Review. Food Science and Nutrition 53:9, 929-942
27. Tzounis X, Rodriguez-Mateos A, Vulevic J, Gibson GR, Kwik-Uribe C, Spencer JP. (2011) Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. Am J Clin Nutr, 93:62-72
28. Vendrame S, Guglielmetti S, Riso P, Arioli S, Klimis-Zacas D, Porrini M. (2011) Six-week consumption of a wild blueberry powder drink increases bifidobacteria in the human gut. J Agric Food Chem, 12815–12820
29. Verbanac D, Peric M, Cipcic Paljetak H, Matijasic M (2011) Debljina , mikrobiota i imunomodulacija . Croatian Journal of Infection, 31: 49-58
30. Verbanac D, Peric M, Cipcic Paljetak H, Matijasic M (2014) Mikrobiota u zdravlju i bolesti *u pripremi*
31. Viveros A, Chamorro S, Pizarro M, Arija I, Centeno C, Brenes A. (2011) Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. Poult Sci, 566–578
32. Wanga S, Moustaid-Moussa Na, Chen L, Mo HC, Shastria A, Su R, Bapat P, Kwund I, Cie S, (2014) Novel insights of dietary polyphenols and obesity . Journal of Nutritional Biochemistry. 25: 1–18
33. Xiao Chen X, Roshan D'Souza R, Hong ST (2013) The role of gut microbiota in the gut-brain axis: current challenges and perspectives. Protein Cell, 4: 403–414
34. Yamamoto Takayuki (2013) Nutrition and diet in inflammatory bowel disease.www.co-gastroenterology.com

11. ŽIVOTOPIS

Ana Marija Mandurić
Braće Cvijića 17, 10000 Zagreb
0989288302
ammanduric@ gmail.com

Rođena sam 15.kolovoza 1989. u Zagrebu gdje sam završila opću X.gimnaziju "Ivan Supek" . Iste, 2008. godine sam upisala Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci a 2009. godine sam prešla na Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Članica sam studentske udruge CroMSIC. Tijekom studija sam završila tečaj hitne pomoći u organizaciji udruge STEPP i tečaj šivanja u organizaciji udruge CroMSIC. Područja interesa su mi imunologija i prehrana.