

# Probiotici i bolesti izazvane stresom, (kronične) upalne bolesti crijeva

te mentalne i neurodegenerativne bolesti



# Utjecaj stresa na mikrobiom i crijevnu barijeru

Stres - akutni ili opetovani - utječe na crijevnu homeostazu, upalne reakcije i rezultira disbiozom: Smanjen je broj simbiotata koji proizvode mliječnu kiselinu u lumenu crijeva. Kao rezultat, gram-negativnim bakterijama, kao što su *E. coli* i *Pseudomonas*, omogućeno je bolje prijanjanje, translokacija i povećani afinitet za crijevni epitel: Stoga, stres pogoduje pojačanoj kolonizaciji crijeva s patogenim mikroorganizmima (Moloney i sur. 2015).

Probiotici mogu suzbiti promjene u crijevima uzrokovane stresom. Izravna interakcija između stanica sluznice i bakterija utječe na pokretljivost crijeva, funkciju barijere i visceralnu osjetljivost. Ti su mehanizmi specifični za određene sojeve (Lutgendorff 2008) i stoga ih izvode samo neke vrste bakterija.

Za funkcionalnu crijevnu barijeru ključan je mukozni sloj crijevne sluznice, ojačan adhezijskim bakterijama. Učinak stresa, smanjuje ne samo broj crijevnih bakterija, već i vrčaste stanice koje stvaraju sluz. Učinci stresa su prikazani u nekoliko studija u kojima su npr. bebe štakori (od 5. do 20. postnatalnog dana) bile odvojene od majke 3 sata dnevno. Nakon toga, u dvanaesniku nađen je ne samo smanjeni broj vrčastih stanica, već i smanjeni broj Panethovih zrnatih stanica, čije granule sadrže važne obrambene elemente za održavanje integriteta sluznice tankog crijeva. U kliničkom istraživanju su štakori pokazali masivno oštećenje sluznice i povećanu propusnost crijeva (leaky gut) - dolazi do upale, što dovodi do uništenja intestinalnih međustaničnih veza, tj. tight junctions, koje su odgovorne za netaknutu crijevnu barijeru s 3 sloja sluzi, epitelnim stanicama i imunom barijerom. Prema najnovijim saznanjima, dugotrajni stres ima snažan upalni učinak, što znači da se proteini međustaničnih veza (tight junctions) otapaju nakon biokemij-

ske kaskade. Prije desetak godina, ovaj fenomen, koji nije bio prepoznatljiv kod kolonoskopije, ali je bio prepoznatljiv u biopsijama, opisan je kao „mikroskopski kolitis“ (Read/Krejs i sur., 1980).

## Parametri upale kod kroničnih upalnih poremećaja crijeva (Linskens i sur. 2001, Wright i sur. 2015)

### Krv / serum

Leukociti, trombociti, brzina sedimentacije (BSG) ↑

CRP ↑

Prokalcitonin (PCT) ↑

Feritin ↑ ili ↓ (↑ parametri upale kod kroničnih upala, ↓ anemija tj. manjak željeza (gubitak krvi kod sindroma iritabilnog crijeva - SIC))

Vitamin B12 ↓

(ako je zahvaćen terminalni ileum ili kod resekcije dijela crijeva)

Albumin ↓

Jetrene probe (ALT (= GPT), AST (= GOT), GLDH, AP) ↑ (Crohnova se bolest često povezuje sa sklerozirajućim kolangitisom (upala žučnih vodova))

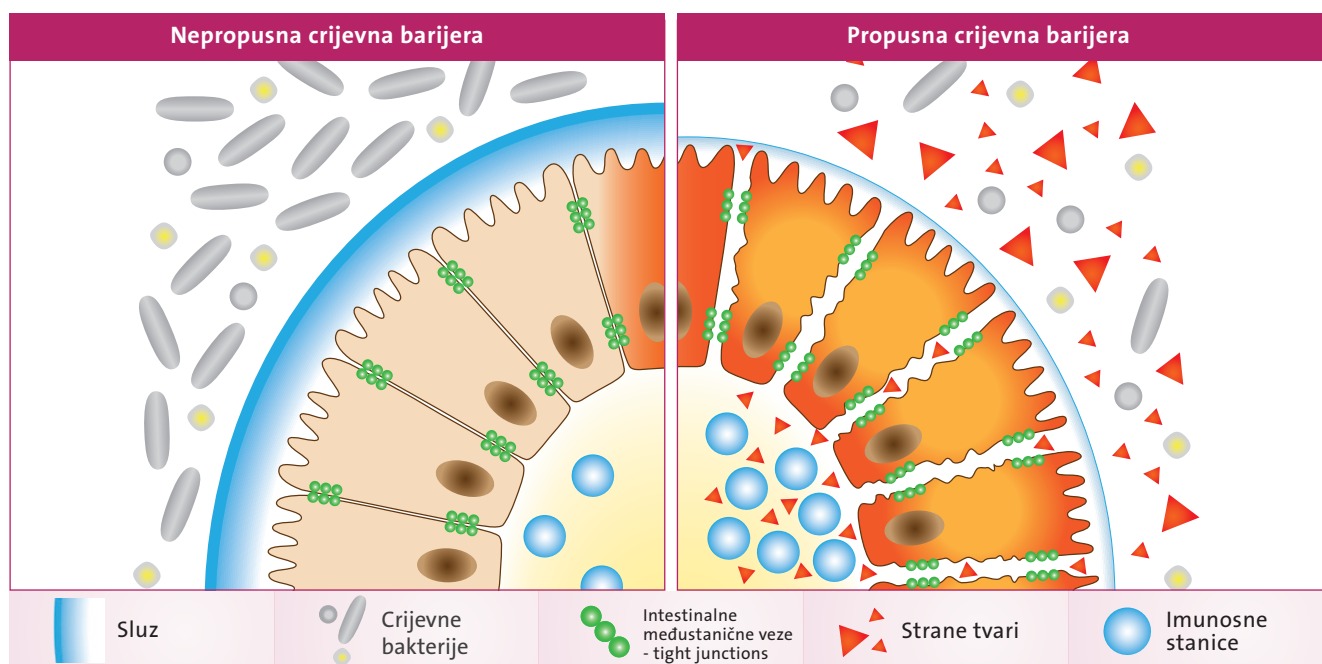
### Stolica

Kalprotektin ↑ (normalne vrijednosti isključuju SIC)

Alpha-1-antitripsin ↑ (znakovi akutne upale crijeva)

Zonulin ↑ (manjkave tight junctions, povećana propusnost crijevne sluznice)

Ove subepitelne promjene nisu endoskopski vidljive, ali su, između ostalog, mjerljive kroz vidljivo povećanje markera upale alfa-1-antitripsina i zonulina. Ova „tiha upala“ ima značajan potencijal bolesti ne samo u crijevima, već i u neurologiji, kardiologiji, reumatologiji itd. Međutim, budući da se biopsije uzimaju samo tijekom kolonoskopije ako postoji sumnja na deformirane stanice, upala često ostaje neotkrivena i ne liječi se.



# Kronične upalne bolesti crijeva (UBC)

Kronične upalne bolesti crijeva (UBC) često su recidivirajuće bolesti gastrointestinalnog trakta. **Ulcerozni kolitis (UK)** i **Crohnova bolest** glavni su oblici UBC-a. Najviša godišnja incidencija ulceroznog kolitisa u Europi iznosi 24 na 100.000 stanovnika, za Crohnovu bolest 13 na 100.000 stanovnika (Molodecky i sur. 2012). 10% upalnih bolesti crijeva moguće je pratiti do genetskih uzroka (Jostins i sur. 2012). Velike geografske razlike u smislu učestalosti i svjetskog porasta UBC-a, što je uglavnom povezano sa zapadnjačkim životnim navikama, pokazuju da su životni i okolišni čimbenici druga glavna komponenta ovih bolesti (Thia i sur., 2008). Treći uzrok bolesti je **promjena mikrobioma**, što je dokazano na Institutu Helmholtz (Roy i sur. 2017). Upalne bolesti crijeva imaju složenu, višefaktorsku etiologiju, što dovodi do različitih oblika bolesti. Ako imunostni sustav ne radi, u crijevnoj stijenci formira se višak tvari koje potiču upalu. Rezultat su upalne promjene u crijevima. Napadaj može biti iznenađan i težak.

Ulcerozni kolitis karakterizira kontinuirana upala sluznice i subsluznice koja obično započinje u rektumu i prostire se proksimalno na različite ekstenzije, ali ostaje ograničena na debelo crijevo. Razlikuje se proktitis, lijevi kolitis i ekstenzivni kolitis (zahvaćeno cijelo debelo crijevo) (Dignass i sur. 2012). Crohnova bolest, s druge strane, može zahvatiti sve dijelove crijeva i obično se nalazi u terminalnom ileumu i debelom crijevu. Crohnova je bolest diskontinuirana i transmuralna (zahvaća sve slojeve crijeva). Stoga se komplikacije, kao što su fistule i strikture, koje se zauzvrat moraju liječiti kirurškim putem, javljaju i kod Crohnove bolesti (Dignass i sur. 2010).

## Terapija za kronične upalne bolesti crijeva (UBC)

Kronične upalne bolesti crijeva nisu izlječive, ali se na njih može utjecati uz pomoć prikladnih lijekova, popratnog liječenja probioticima, prebioticima i sinbioticima te odgovarajućom prehranom. Raspon terapija se kreće od terapije lijekovima, poput aminosalicilata do bioloških lijekova. Odabir metode liječenja ovisi o lokaciji i upalnoj aktivnosti. **Protuupalni lijekovi** obično se koriste za liječenje akutne upale crijeva. Za blage do umjerene simptome koriste se pripravci 5-ASA (5-aminosalicilna kiselina) za ublažavanje upale, a glukokortikoidi za ozbiljne slučajeve. Ako do infektivne upale crijeva dođe zbog patogenih bakterija, koristi se **antibiotik**. On dodatno oštećuje crijevnu sluznicu i mikrofloru (= crijevna barijera), koje su već pod utjecajem kronične upale te smanjuje zaštitnu funkciju crijevne sluznice jer nedostaju bakterije odgovorne za poticanje proizvodnje sluzi. Imunosupresivna sredstva koja se koriste kod kronične upale, a koja su namijenjena sprečavanju pretjeranog odgovora imunostnog sustava da proizvodi tvari koje potiču upalu, čine sve kako bi uništili fiziološki mikrobiom. Jako oštećena ili potpuno uništena crijevna sluznica i bakterijski ekosustav mogu se ponovno regenerirati probioticima.

## Probiotici kod kronično-upalnih bolesti crijeva (UBC)

Dokaz da je crijevni mikrobiom od velike važnosti kod kronično-upalnih bolesti crijeva moguće je dobiti isključivo molekularnim genetičkim dubinskim sekvencioniranjem (Jonkers i sur., 2012). Kod UBC-a može se primijetiti manja raznolikost i drugačiji sastav mikrobioma (disbioza). Smanjuje se količina bakterije *Faecalibacterium prausnitzii*, a također i enterobakterija. Promijenjeni sastav mikrobioma kod kronično-upalnih bolesti crijeva i kronična upala temelj su za upotrebu probiotika.

DGVS (Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten) i ECCO (European Crohn's and Colitis Organisation) smjernice preporučuju probiotike za ulcerozni kolitis kao alternativu mesalazinu (Stange 2013; ECCO Izjava 6D). Postoje i relevantni dokazi za uporabu višesojnih probiotika za održavanje remisije kod pacijenata s pouchitisom nakon izvršene ileoanalne anastomoze kod ulceroznog kolitisa (Persborn i sur. 2013; Jonkers i sur. 2012; Gionchetti i sur. 2000). Pouchitis je najčešća komplikacija nakon proktokolektomije s formiranjem ilealnog spremnika (pouch).

## Probiotici kod sindroma iritabilnog crijeva (SIC)

Odabrani probiotici uključeni su u S3 smjernicu o sindromu iritabilnog crijeva (SIC) Njemačkog društva za probavne i metaboličke bolesti (DGVS) 2011. godine (Layer i sur. 2011). U skladu s tim, Njemačko društvo za prehranu (DGE) preporučuje uporabu probiotika kod liječenja SIC-a (DGE Savjeti za standarde 2013.) u svojim trenutnim savjetodavnim standardima. Postoje dobri rezultati za probiotike za sve vrste SIC-a, odnosno za zatvor, naduti želudac, proljev i trbušne bolove. Prevladavajući simptomi važni su za odabir soja.

Također je važno napomenuti da su rezultati specifični za određene sojeve i da se ne mogu odnositi na druge sojeve. U smjernicama o kroničnom zatvoru iz 2013. godine, DGVS također preporučuje probiotike (Andresen i sur. 2013). Uključivanjem probiotika u različite smjernice stručnjaci uzimaju u obzir činjenicu da su znanstveni podaci o određenim probioticima potvrđeni i predstavljaju trenutno moguće opcije.

# Znanstvene studije Instituta AllergoSan pokazuju uspješnu uporabu višesojnih probiotika

## Probiotici moduliraju degranulaciju mastocita in vitro i reduciraju stresom induciranu disfunkciju barijere

(Lutgendorff F i sur. 2009)

Mastociti imaju važnu ulogu na početku stresnog poremećaja crijevne barijere jer oslobađaju i proupalne (TNF- $\alpha$ ) i protuupalne tvari (15d-PGJ2). Uz to, kod stresa se smanjuje transepitelni otpor i time se povećava propusnost crijevne barijere za patogene i toksine. U ovoj studiji mastocite se „izložilo“ stresu aktiviranjem pomoću hormona koji oslobađa kortikotropin (CRH).

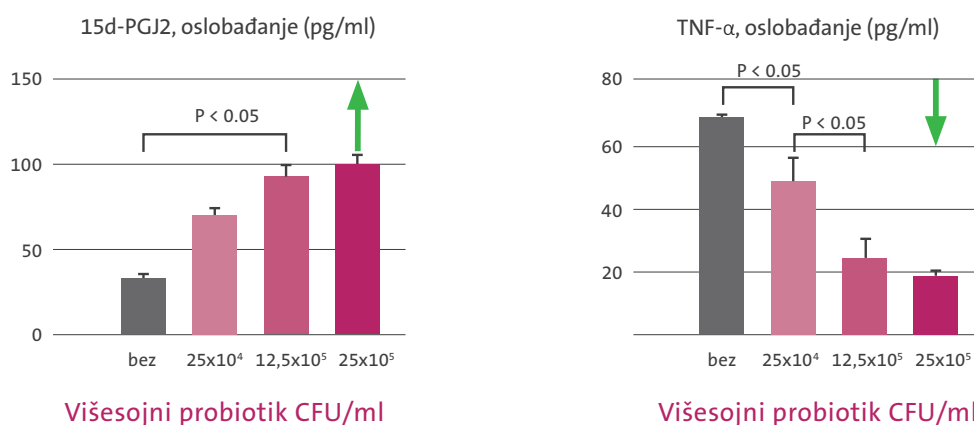
Za ovaj eksperiment, epitelne stanice crijeva opskrbljene su s višesojnim probioticima (9 protuupalnih bakterijskih sojeva) u različitim dozama; stanice za komparativno ispitivanje ostale su neobrađene.

**Rezultati:** Rezultati su jasno pokazali da mastociti tretirani probiotikom oslobađaju značajno više protuupalnog prostaglandina 15d-PGJ2, a također izlučuju značajno manje upalni TNF- $\alpha$ . Također treba naglasiti da su učinci ovisili o doziranju probiotika i da je veća doza postigla bolje vrijednosti.

Aktiviranje mastocita pomoću CRH-a u početku je smanjilo rezistenciju transepitela, ali su višesojni probiotici značajno poboljšali rezultirajuću disfunkciju barijere epitela.

**Zaključak:** Tretiranjem mastocita s višesojnim probiotikom, posebno protuupalnim bakterijskim sojevima, njihova degranulacija može se modulirati, što se pokazalo protuupalnim učinkom nakon stresa i poboljšanom barijerom epitela.

### Sprječavanje upale nakon stresa primjenom probiotika



**Slika 1:** Probiotik povećava oslobađanje protuupalnog 15d-PGJ2 i značajno smanjuje degranulaciju proupalnog TNF-a iz mastocita.

## Pozitivni učinci višesojnih probiotika na funkciju crijevne barijere

(van Hemert 2013)

**N**etaknuta crijevna barijera važna je za sprječavanje translokacije bakterija, toksina i antigena iz lumena crijeva u tijelo. Ovisno o bakterijskim sojevima koji se koriste, probiotici mogu poboljšati funkciju barijere epitela. Zbog poteškoća u mjerenju učinka preparata na crijevnu barijeru kod ljudi, većina studija na ovom području do sada je koristila samo stanične kulture ili životinjske modele. Kako bi se bolje razumio učinak probiotika na crijevnu barijeru kod čovjeka, u ovoj studiji su na 14 pretilih pacijenata ispitivani različiti parametri upale.

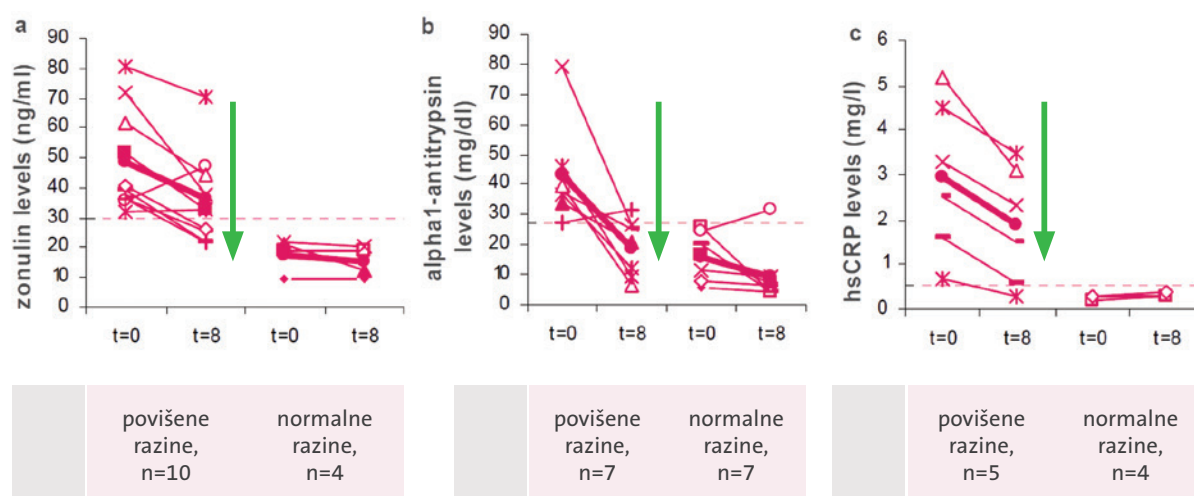
U tu su svrhu ispitanici primali dozu višesojnih probiotika ( $7,5 \times 10^9$  CFU, 9 protuupalnih sojeva) jednom dnevno u trajanju od 8 tjedana. Uzorci seruma i stolice analizirani su prije početka unosa i nakon 8 tjedana suplementacije, posebno parametri upale **zonulin**, **alfa1-antitripsin** i **hsCRP**.

**Rezultati:** Zonulin je središnji marker povećane crijevne propusnosti: Ako se vrijednosti zonulina povećaju, to je znak da se intestinalne međustanične veze (tight junctions) rastvaraju. U 10 od 14 bolesnika utvrđena je povećana vrijednost zonulina prije početka uzimanja probiotika koja se smanjila nakon osam tjedana suplementacije. Alfa1-antitripsin, koji je povećan kod 12 od 14 ispitanika, također je značajno smanjen nakon unosa probiotika. Vrijednosti hsCRP-a povišene su kod polovice bolesnika na početku pregleda, ali su se značajno smanjile i tijekom faze promatranja.

Nakon 8 tjedana liječenja, pacijenti su izvijestili o značajno poboljšanoj kvaliteti života i poboljšanom gubitku tjelesne težine.

**Zaključak:** S 8-tjednom primjenom višesojnog probiotika, svi analizirani parametri upale, koji su povećani kod ispitanika, mogu se značajno smanjiti – jasan dokaz smanjenja upale.

### Smanjenje parametara upale primjenom probiotika



**Slika 2:** Probiotik je dokazano smanjio povećane parametre upale (zonulin, alfa-antitripsin i hsCRP).

## Pozitivan učinak višesojnih probiotika na funkciju crijevne barijere bolesnika s ulceroznim kolitisom s akutnim pouchitisom

(Persborn 2013)

Kod bolesnika s ulceroznim kolitisom, kolektomija je često potrebna zbog neprestane upale debelog crijeva. 10–15% razvije kroničnu upalu ilealnog spremnika (pouch) nakon kirurškog uklanjanja debelog crijeva. Ova komplikacija liječi se antibioticima, a u posljednjem slučaju često je potrebna još jedna kirurška intervencija.

Kako bi se ispitao učinak probiotika na funkciju crijevne barijere ispitano je 16 bolesnika s teškim pouchitisom: Uzorci vrećica uzeti su tijekom akutnog pouchitisa i tijekom kliničke remisije nakon 4 tjedna primjene antibiotika. Pacijenti su nakon toga tijekom 8 tjedana primali višesojne probiotike s 9 protuupalnih sojeva ( $7,5 \times 10^9$  CFU), a nakon čega je uzet još jedan uzorak. Odgovarajuće kontrole prikupljene su od 13 osoba s upaljenim ilealnim spremnikom (pouch).

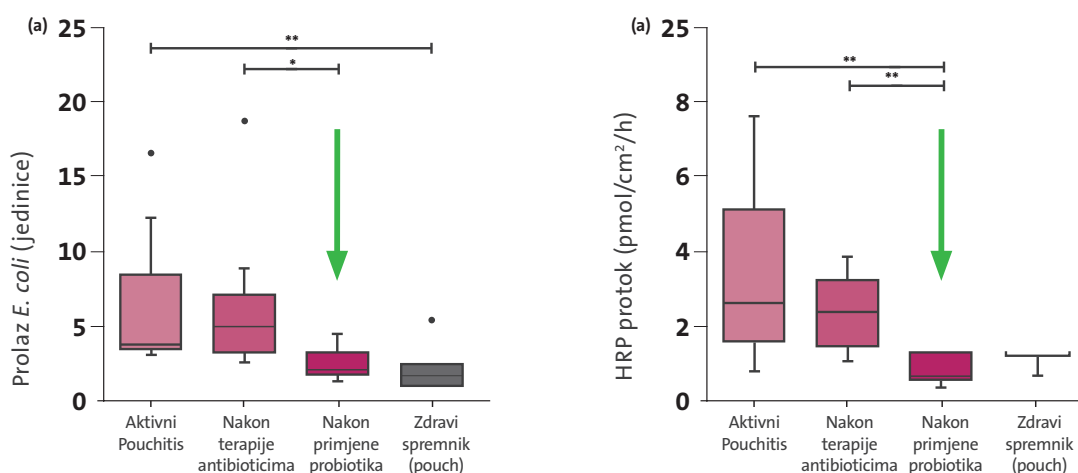
**Rezultati:** Za aktivni pouchitis karakterističan je visoki prijenos *E. coli* kroz propusno crijevo (leaky gut), što je potvrđeno i u uzorcima prikupljenima od 16 ispitanika. Ova vrijednost promijenjena je odmah nakon primjene antibiotika. Nakon 8 tjedana primjene probiotika, prijenos *E. coli* značajno je smanjen i popraćen je zdravim ilealnim spremnikom (pouch).

Pored toga, transepitelni prolaz makromolekula ispitan je pomoću HRP-a (Horse-Radish-Peroxidase): Terapija antibioticima ni ovdje nije pokazala značajne promjene, ali primjena probiotika donijela je značajno poboljšanje, što je također odgovaralo vrijednosti zdravog ilealnog spremnika (pouch).

**Zaključak:** Višesojni probiotici s protuupalnim sojevima mogu oporaviti mukoznu barijeru protiv *E. coli* i HRP-a u bolesnika s pouchitisom, što je obećavajući način za sprječavanje recidiva tijekom oporavka.

Na taj se način obnovljena funkcija barijere očitovala i u promjenama u sastavu crijevne flore sluznice.

### Pozitivni učinci probiotika kod pouchitisa



**Slika 3:** Uzimanje višesojnih probiotika sprječava translokaciju bakterija (lijevo) i značajno povećava funkciju barijere (desno) (smanjenje transepitelnog prolaza makromolekula).



# Neurodegenerativne bolesti – Alzheimerova demencija

Demencija se često izjednačava s Alzheimerovom demencijom. Međutim, Alzheimerova demencija samo je jedan od mnogih različitih oblika neurodegenerativnih bolesti, ali i najčešći sa 60% učestalosti (Stechl i sur., 2012). Alzheimerova demencija odgovorna je za 24 milijuna demencija širom svijeta (Ferri i sur. 2005). Razlikuju se primarna i sekundarna demencija. Primarne demencije imaju svoje porijeklo u mozgu, najčešće su s udjelom od 90% i nisu izlječive. Tijekom bolesti živčane stanice odumiru i komunikacija između neuronskih mreža se pogoršava, otuda i izraz neurodegenerativne bolesti. Pored Alzheimerove demencije, primarne demencije uključuju i vaskularnu (15%) demenciju, demenciju Lewyjevih tjelešaca i rijetku frontotemporalnu demenciju. Sve ove neurodegenerativne bolesti povezane su s **kroničnom upalom**.

Kod rjeđih **sekundarnih demencija** mentalno pogoršanje nastaje samo kao posljedica druge postojeće bolesti poput depresije, bolesti štitnjače, kronične intoksikacije alkoholom. Međutim, traumatične ozljede mozga, nedostatak vitamina (npr. vitamina B6 i B12) i određeni lijekovi mogu također uzrokovati sekundarnu demenciju. S porastom dobi učestalost demencije naglo raste.

Bolesnici s najčešćim oblikom starosne demencije - **Alzheimerova demencija** - obično su stariji od 65 godina. Karakteristično je sve veće pogoršanje kognitivnih funkcija praćeno smanjenjem sposobnosti suočavanja sa svakodnevnim aktivnostima, povećanim problemima u ponašanju i povećanim neuropsihijatrijskim simptomima. Alzheimerova demencija još nije izlječiva (Mahlberg i sur. 2009). Postoje faktori rizika poput pretilosti, visokog krvnog tlaka (Kehoe i sur. 2007), traumatične ozljede mozga, konzumacija nikotina, poremećaja metabolizma masti i metaboličkog sindroma.

Većina bolesnika pokazuje kroničnu upalu, crijevnu neravnotežu mikroflora i povećanu propusnost crijevne barijere crijeva s translokacijom toksina u organizam, koji preopterećuju jetru u njezinoj funkciji detoksikacije i posljedično preko jetreno-moždane osi remeti središnji živčani sustav. Uzroci Alzheimerove demencije još uvijek nisu potpuno razjašnjeni – dolazi do gubitka živčanih stanica u CNS-u, veze između stanica i neurotransmitera su smanjene i dovode do gubitka funkcije mozga.

Jasno je da se taloži višak proteinskih čestica (beta-amiloid (A $\beta$ -)), peptida i neurofibrila koji se nakupljaju u neuronima. Genetski čimbenici također igraju ulogu. „Naslage” se obično prenose dalje kroz limfni sustav iz intersticijskog prostora u mozgu.

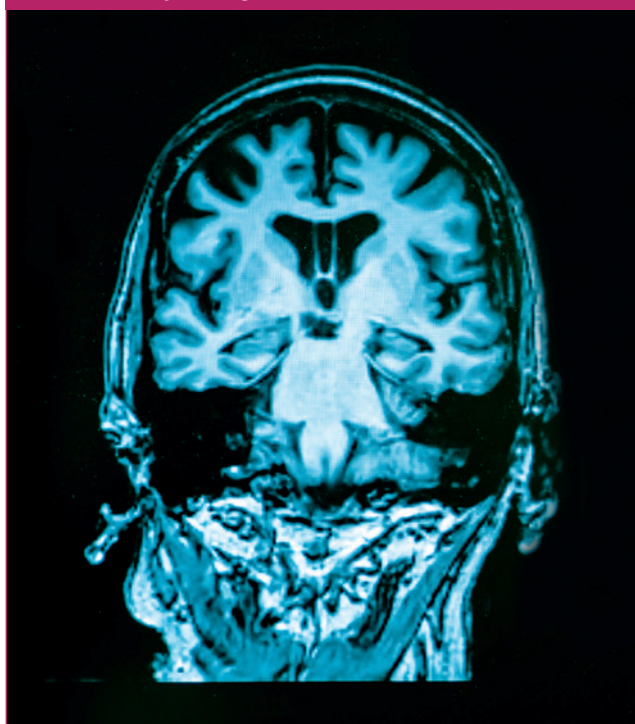
Međutim, kapacitet sustava je ograničen; ako je iscrpljen, dolazi do upale i deaktivacije mikroglija stanica (Erny i sur., 2015). Nedavna istraživanja pokazuju još jedan važan čimbenik - a to su mikrobnne promjene i smanjena raznolikost crijevnog mikrobioma (Leblhuber i sur., 2015, 2017), što dokazuje blisku povezanost crijeva i mozga (Tarasoff-Conway i sur. 2015).

## Terapija za Alzheimerovu demenciju

Daljnji razvoj za moguću terapiju Alzheimerove demencije stagnira. Nedavno su objavljene 3 studije u 3 faze s više od 2.500 Alzheimerovih pacijenata u kojima je selektivni antagonist receptora 5-hidroksitriptamin-6 razočarao u očekivanim rezultatima (Bennett i sur. 2018).

S obzirom na mnoge neuspješne pokušaje terapije, važnost kroničnih upalnih procesa i izmijenjenog mikrobioma u bolesnika s Alzheimerovom demencijom, orijentirana je na rani utjecaj patološkog razvoja (Miller 2012) i na strategije prevencije. Multimodalni terapijski pristupi sa zdravom prehranom (mediteranska prehrana) i dodacima prehrani (kurkumin, polifenoli, omega-3 masne kiseline), tjelovježbom, prebiotcima i lijekovima čine se prikladnim za **zaustavljanje mentalnog pada** kod bolesnika s demencijom (Ngandu i sur. 2015).

Atrofija mozga kod Alzheimerove bolesti





## Propusna crijeva (leaky gut) kod pacijenata koji boluju od Alzheimerove bolesti koja se odlikuje povišenim kalprotektinom

(Leblhuber i sur. 2015.)

Alzheimerova je bolest najčešća neurodegenerativna bolest u starijoj populaciji, ali razumijevanje njezine patogeneze i dalje je nejasno. Kako bi se provjerila moguća uključenost crijeva ili poremećena funkcija crijevne barijere, fekalna koncentracija upalnog parametra **kalprotektina** određena je kod 22 bolesnika koji pate od Alzheimerove bolesti i uspoređena sa serumskom koncentracijom aromatskih aminokiselina (triptofan, histidin, fenilalanin, tirozin).

**Rezultati:** Koncentracija kalprotektina u stolici uglavnom se ne povećava s godinama. Međutim, 22 uzorka stolice pacijenata koji boluju od Alzheimerove bolesti pokazali su značajno povećane vrijednosti kalprotektina: Srednje vrijednosti su bile  $140 \pm 31,9$  mg/kg, sa 16 od 22 analiziranih uzoraka (73%) znatno iznad norme ( $> 50$  mg/kg). Vrijednosti kalprotektina u korelaciji s razinama triptofana, tirozina i fenilalanina u serumu ( $p < 0,05$ ) su suprotne. Tako povećane koncentracije fekalnog kalprotektina ukazuju na upalu i poremećenu funkciju crijevne barijere, što bi moglo biti uzrok smanjene koncentracije esencijalnih aromatskih aminokiselina kod pacijenata koji boluju od Alzheimerove bolesti. U skladu s prethodnim istraživanjima, opažene su i abnormalne vrijednosti imunskih biomarkera, što naglašava važnost upalnih procesa u patogenezi Alzheimerove bolesti.

**Zaključak:** Propusna crijeva (leaky gut) mogla bi imati važnu ulogu u razvoju Alzheimerove bolesti. Suprotno tome, probiotici mogu imati pozitivan učinak na poremećaje funkcije crijevne barijere i upale.

## Utjecaj višesojnih probiotika na sistemsku upalu kod bolesnika koji pate od Alzheimerove bolesti

(Leblhuber i sur. 2017)

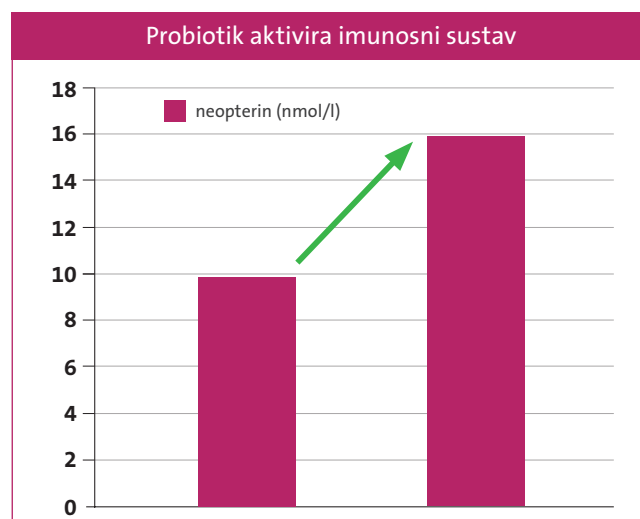
Mikrobiom crijevno-moždane osi i njezin dvosmjerni utjecaj na funkciju mozga dobivaju sve veći znanstveni interes u liječenju i prevenciji različitih neuroloških i psihijatrijskih poremećaja. Ovdje bi središnju ulogu trebali odigrati neuroinflamatorni i imunski procesi vezani za pojam propusnih crijeva (leaky gut). Pilotska studija na pacijentima s Alzheimerovom demencijom ( $n = 45$ ) i pacijentima s blagim kognitivnim poremećajem ( $n = 10$ ) istraživala je učinke četverotjedne primjene posebnog protuupalnog višesojnog probiotika ( $7,5 \times 10^9$  CFU, 9 sojeva).

**Rezultati:** Uzorci uzeti na početku ispitivanja pokazali su da su imunski upalni parametri međusobno povezani i u serumu (neopterin) i u stolici (S100A12) i povećanoj vrijednosti CRP ( $1,6 \pm 2,3$  mg/l) bez kliničkih znakova akutne infekcije. Smanjene su vrijednosti i za prekursore neurotransmitera: triptofana, fenilalanina i tirozina, koji su u korelaciji s povećanim kalprotektinom, markerom upale crijevne sluznice.

Nakon četverotjedne primjene višesojnih probiotika, dokumentirani su sljedeći pozitivni učinci:

1. Značajan porast bakterija *Faecalibacterium prausnitzii* i *Akkermansia muciniphila*. Prvi je bakterijski soj s jakim protuupalnim svojstvima, drugi je odgovoran za proizvodnju sluzi, oba su bitna simbionta za uravnoteženu crijevu barijeru.
2. Značajno povećanje neopterina - markera koji ukazuje na aktivaciju staničnog imunskog sustava i time borbu protiv prisutne upale. Omjer fenilalanin/tirozin se normalizirao.
3. Aktiviranje makrofaga zbog antimikrobnih i antioksidativnih svojstava simbionata.
4. Unos probiotika regulirao je reakciju imunskih stanica na vitamin D povećavajući broj receptora vitamina D i tako smanjio lokalnu upalu.

**Zaključak:** Dostupne studije daju jasne indicacije da protuupalni probiotici kod Alzheimerove demencije i kognitivnog propadanja mogu imati pozitivan utjecaj na upalu u tijelu i manjkav imunski odgovor. Ovi se rezultati trenutno provjeravaju u daljnjim i većim studijama kako bi se jasno potvrdila učinkovitost probiotika koji su specifični za indicacije u neurodegenerativnim i psihijatrijskim bolestima – u prevenciji i terapiji.



Slika 4: Značajno povećanje neopterina



# Popis literature

---

- V. Andresen et al., „S2k-Leitlinie Chronische Obstipation: Definition, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie,“ AWMF-Registriernummer: 021/019, Feb. 2013
- DA Bennett, „Lack of Benefit With Idalopirdine for Alzheimer Disease: Another Therapeutic Failure in a Complex Disease Process,“ *JAMA*, pp 123-125, Jan. 2018
- A. Dignass et al., “Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 1: Definitions and diagnosis,” *J. Crohn’s Colitis*, vol. 6, no. 10, pp. 965–990, Dec. 2012.
- A. Dignass et al., “The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn’s disease: Current management,” *J. Crohn’s Colitis*, vol. 4, no. 1, pp. 28–62, Feb. 2010.
- D. Erny et al., “Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS,” *Nat. Neurosci.*, vol. 18, no. 7, pp. 965–977, Jun. 2015.
- C. P. Ferri et al., “Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study,” *Lancet*, vol. 366, no. 9503, pp. 2112–2117, Dec. 2005.
- P. Gionchetti et al., “Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial,” *Gastroenterology*, vol. 119, no. 2, pp. 305–9, Aug. 2000.
- S. van Hemert, J. Verwer, and B. Schütz, “Clinical Studies Evaluating Effects of Probiotics on Parameters of Intestinal Barrier Function,” *Adv. Microbiol.*, vol. 3, no. 2, pp. 212–221, May 2013.
- D. Jonkers, J. Penders, A. Masclee, and M. Pierik, “Probiotics in the management of inflammatory bowel disease: a systematic review of intervention studies in adult patients,“ *Drugs*, vol. 72, no. 6, pp. 803–23, Apr. 2012.
- L. Jostins et al., “Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease,“ *Nature*, vol. 491, no. 7422, pp. 119–24, Nov. 2012.
- P. G. Kehoe and G. K. Wilcock, “Is inhibition of the renin–angiotensin system a new treatment option for Alzheimer’s disease?,” *Lancet Neurol.*, vol. 6, no. 4, pp. 373–378, Apr. 2007.
- P. LAYER et al., „S3-Leitlinie Reizdarmsyndrom: Definition, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie,“ AWMF-Registriernummer: 021/016, Feb. 2011
- F. Leblhuber, S. Geisler, K. Steiner, D. Fuchs, and B. Schütz, “Elevated fecal calprotectin in patients with Alzheimer’s dementia indicates leaky gut,“ *J. Neural Transm.*, vol. 122, no. 9, pp. 1319–22, Sep. 2015.
- F. Leblhuber, D. Fuchs, and B. Schütz, „Die Bedeutung der Darm-Hirn-Achse bei Demenz,“ *Spectrum Psychiatrie*, pp 38-41, Oct. 2017
- R. K. Linskens, A. A. van Bodegraven, M. Schoorl, H. A. Tuynman, and P. Bartels, “Predictive value of inflammatory and coagulation parameters in the course of severe ulcerative colitis,“ *Dig. Dis. Sci.*, vol. 46, no. 3, pp. 644–8, Mar. 2001.
- F. Lutgendorff, L. M. A. Akkermans, and J. D. Söderholm, “The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastro-intestinal damage,“ *Curr. Mol. Med.*, vol. 8, no. 4, pp. 282–98, Jun. 2008.
- F. Lutgendorff, A. Carlsson, L. Akkermans, D. McKay, and J. Söderholm, “Probiotics modulate mast cell degranulation and reduce stress-induced barrier dysfunction.”
- G. Miller, “Alzheimer’s research. Stopping Alzheimer’s before it starts.” *Science*, vol. 337, no. 6096, pp. 790–2, Aug. 2012.
- R. Mahlberg, H. Gutzmann, „Demenzkrankungen: erkennen, behandeln und versorgen,“ Deutscher Ärzte-Verlag, Feb. 2009
- N. A. Molodecky et al., “Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review,“ *Gastroenterology*, vol. 142, no. 1, p. 46–54.e42, Jan. 2012.
- R. D. Moloney, A. C. Johnson, S. M. O’Mahony, T. G. Dinan, B. Greenwood-Van Meerveld, and J. F. Cryan, “Stress and the Microbiota-Gut-Brain Axis in Visceral Pain: Relevance to Irritable Bowel Syndrome,“ *CNS Neurosci. Ther.*, vol. 22, no. 2, pp. 102–17, Feb. 2016.
- T. Ngandu et al., “A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial,“ *Lancet (London, England)*, vol. 385, no. 9984, pp. 2255–63, Jun. 2015.
- M. Persborn, J. Gerritsen, C. Wallon, A. Carlsson, L. M. A. Akkermans, and J. D. Söderholm, “The effects of probiotics on barrier function and mucosal pouch microbiota during maintenance treatment for severe pouchitis in patients with ulcerative colitis,“ *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 38, no. 7, pp. 772–783, Oct. 2013.
- N. W. Read, G. J. Krejs, M. G. Read, C. A. Santa Ana, S. G. Morawski, and J. S. Fordtran, “Chronic diarrhea of unknown origin,“ *Gastroenterology*, vol. 78, no. 2, pp. 264–71, Feb. 1980.
- U. Roy et al., “Distinct Microbial Communities Trigger Colitis Development upon Intestinal Barrier Damage via Innate or Adaptive Immune Cells,“ *Cell Rep.*, vol. 21, no. 4, pp. 994–1008, Oct. 2017.
- E. F. Stange et al., „Colitis ulcerosa - Morbus Crohn,“ Uni-Med, 5. Auflage, May 2016
- E. Stechl et al., „Praxishandbuch Demenz: Erkennen – Verstehen – Behandeln,“ Mabuse-Verlag, 2012
- J. M. Tarasoff-Conway et al., “Clearance systems in the brain — implications for Alzheimer disease,“ *Nat. Rev. Neurol.*, vol. 11, no. 8, pp. 457–470, Aug. 2015.
- K. T. Thia, E. V Loftus, W. J. Sandborn, and S.-K. Yang, “An update on the epidemiology of inflammatory bowel disease in Asia,“ *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 103, no. 12, pp. 3167–82, Dec. 2008.
- E. K. Wright et al., “Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn’s disease after surgery,“ *Gastroenterology*, vol. 148, no. 5, p. 938–947.e1, May 2015.

# Kriteriji kvalitete

za medicinski relevantne probiotike i sinbiotike prema kriterijima WHO, WGO, FDA, kao i DePROM i OePROM

## 1. Sigurnost

Svi bakterijski sojevi moraju imati međunarodni status GRAS (Generally Recognized As Safe) ili slične certifikate. To znači maksimalnu sigurnost konzumacije kod ljudi, odsutnost antibiotske rezistencije i odsutnost nuspojava čak i uz dugotrajnu upotrebu.

## 2. Broj bakterija

Najmanje  $10^9$  CFU (jedinice koje tvore kolonije = 1 milijarda bakterija po gramu praha). To znači da se može apsorbirati relevantan broj održivih bakterija.

## 3. Aktivnost

Probiotske bakterije su najučinkovitije u roku od 24 sata nakon što su rehidrirane, što znači da im se vraća sposobnost preživljavanja. Za to vrijeme rehidrirane bakterije bi se trebale već apsorbirati u ljudsko tijelo, gdje mogu aktivno koristiti i svoje imunosne i metaboličke sposobnosti u gastrointestinalnom traktu.

## 4. Sposobnost razmnožavanja

Razmnožavanje probiotičkih bakterija nastavlja se i nakon završetka terapije. Do sada je to dokazano za jako mali broj probiotičkih proizvoda. Dokazi o sposobnosti razmnožavanja bakterija u sinbiotičkim proizvodima Instituta AllergoSan objavljeni su u više znanstvenih časopisa.

## 5. Otpornost na želučane i žučne kiseline

Otpornost bakterija na jake kiseline je neophodna. Najbolje je rehidrirati i na taj način aktivirati suhosmrznute bakterije izvan tijela u neutralnoj tekućini, što je moguće kod sinbiotika u obliku praha. Tamo se bakterije mogu nahraniti i ojačati prije nego što moraju preživjeti prolazak kroz želudac sa želučanom kiselinom i kroz dvanaesnik s lučenjem žučne kiseline i gušterače.

## 6. Stabilnost na sobnoj temperaturi

Što se tiče broja bakterija na ambalaži probiotičkih proizvoda, ne bi trebalo navoditi broj bakterija u vrijeme punjenja, već je mjerodavan njihov broj pri isteku roka trajanja proizvoda. Nakon rehidracije, broj bakterija počne postepeno opadati, sve dok potpuno ne odumru nakon nekoliko dana. Često se ne mogu razmnožavati, ako im okruženje ne nudi optimalne životne uvjete. Zahtjevanjem kvalitetne analize svakog punjenja i dokazanom 24-mjesečnom stabilnošću pokazalo se da proizvodi Instituta AllergoSan opstaju i pri sobnoj temperaturi.

## 7. Optimizacija sredine

Optimalna pH vrijednost u tankom crijevu je 4,0–5,5. Pri ovoj vrijednosti dobre bakterije se odlično razmnožavaju i prilagođavaju okolini. S druge strane, štetne se bakterije pri ovim vrijednostima ne razmnožavaju.

Iz tog razloga probiotik treba sadržavati vrste bakterija koje održavaju niski pH, što postižu pojačanim stvaranjem mliječne kiseline.

## 8. Formulacija više vrsta sinbiotskih bakterijskih sojeva

Kombinacija različitih bakterijskih sojeva uz dodatak aktivacijske matrice koja sadrži aktivirajuće prebiotike poput inulina, FOS-a ili GOS-a, omogućuje bolju komunikaciju između bakterija i ljudskih stanica, kao i umnožavanje potencijala pojedinih sojeva: Tim koji raspolaže različitim vještinama uspješniji je od pojedinačnog borca.

## 9. Sinergija bakterijskih sojeva

Neki sojevi bakterija međusobno si ne pašu, zbog čega se može dogoditi da uđu u sukob, primjerice oko borbe za hranu. Zbog toga se učinkovitost pomiješanih bakterijskih sojeva mora dokazati metodom „cross streak“, odnosno njihovo se djelovanje mora dokazati znanstvenim istraživanjima.

## 10. Bez šećera, glutena i životinjskih proteina

Za izbjegavanje intolerancije.

## 11. Aktivacijska matrica

Enzimi, vlakna i minerali dodani su za povećanje aktivnosti i sposobnosti razmnožavanja bakterija. To povećava proizvodnju sluzi vrčastih stanica i adheziju unesenih bakterija te tako jača crijevnu barijeru.

## 12. Studije učinkovitosti

Probiotici bi trebali imati svoju dokazanu učinkovitost provođenjem znanstvenih studija na ljudima.