

Debljina, mikrobiote i imunomodulacija

Mihaela PERIĆ, dr. sc., dipl. ing. mol. biologije

Hana ČIPČIĆ PALJETAK, dr. sc., dipl. ing. mol. biologije

Mario MATIJAŠIĆ, mr. sc., dipl. ing. mol. biologije

Donatella VERBANAC, doc. dr. sc., dipl. ing. med. biokemije

Odjel za međustaničnu komunikaciju, Centar za translacijska i klinička istraživanja, Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet, Šalata 2, 10000 Zagreb

Ključne riječi

*prekomjerna težina
pretilost
crijevna flora
imunomodulacija
prehrana*

Key words

*overweight
obesity
gut microbiota
immunomodulation
nutrition*

Primljeno: 2011-03-11

Received: 2011-03-11

Prihvaćeno: 2011-03-21

Accepted: 2011-03-21

Uvod

Debljina je stanje praćeno prekomjernim nakupljanjem masnog tkiva u organizmu. Najjednostavnija metoda za ocjenu stupnja debljine je određivanje indeksa tjelesne mase (ITM, engl. *body mass index* BMI) koji predstavlja omjer tjelesne mase i kvadrata visine (m/v^2 izraženo jedinicama kg/m^2). Normalne vrijednosti ITM su

19–25, ovisno o građi osobe, sitna – normalna – krupna, a vrijednosti veće od 25–30 po definiciji imaju osobe s prekomjernom tjelesnom težinom. Kada je ITM veći od 30 govorimo o pravoj debljini ili pretilosti. Osobe s prekomjernom tjelesnom težinom su zdravstveno ugrožene, slično kao i pretile osobe, posebno u slučajevima kada je pretilost pridružena i ostalim čimbenicima rizika [1]. Sjedinjene Američke Države su pretilost službeno pro-

Pregledni rad

Prekomjerna težina i pretilost predstavljaju rastući medicinski i socioekonomski problem modernog društva s brojnim zdravstvenim posljedicama. Prekomjerna težina povećava rizik od nastanka kroničnih i degenerativnih oboljenja, od metaboličkih, kardiovaskularnih i malignih bolesti preko podložnosti infekcijama do više stope smrtnosti. Masno tkivo pored uloge skladištenja energije ima i brojne endokrine i imunološke funkcije. Ono može utjecati na razvoj inzulinske neosjetljivosti, nastanak metaboličkog sindroma, a lučenjem adipokina, čimbenika stvorenih u masnim stanicama, doprinosi upalnim procesima, pa se i iz tog razloga pretilost smatra kroničnom upalnom bolešću. U razvoju pretilosti značajnu ulogu imaju crijevne mikrobiote, koje obavljaju važne metaboličke funkcije u probavi, apsorpciji i metabolizmu hranjivih tvari. Također, pravilan razvoj crijevnog epitela i imunološkog sustava pod izravnim je utjecajem mikrobiote u crijevima. Metabolička endotoksemija jedan je od načina kako mikrobiote doprinose upalnim procesima u organizmu. Uz farmakološke i kirurške pristupe liječenju pretilosti, balansiranom prehranom i modulacijom crijevne mikrobiote primjenom probiotika i prebiotika može se doprinijeti kontroliranom mršavljenju.

Obesity, microbiota and immunomodulation

Review paper

Overweight and obesity represent a growing medical and socioeconomic problem of modern society with numerous consequences on human health. Overweight individuals are at increased risk for developing chronic and degenerative conditions, from metabolic, cardiovascular and malignant diseases to increased susceptibility to infections and higher mortality rates. Apart from being an energy storage, fat tissue also has numerous endocrine and immune functions. Fat tissue can induce insulin resistance, development of metabolic syndrome and by secreting adipokines directly contribute to inflammatory processes which makes obesity a chronic inflammatory disease. Gut microbiota have an important role in obesity development since they perform important metabolic functions in nutrients digestion, absorption and metabolism. Also, specific development of gut epithelia and immune system are under direct influence of gut microbiota. By inducing metabolic endotoxemia microbiota contributes to the development of inflammatory processes in the organism. Along with pharmacological and surgical treatments, controlled weight loss in obesity can also be achieved by balanced diet and by modulating gut microbiota with probiotics and prebiotics.

glasile bolešću u srpnju 2004. godine. Takav pristup trebao bi dovesti do uvođenja programa terapije u svim zemljama, odnosno kontinuiranog liječenja ove dosad zanemarene bolesti koja već dugo postoji kao dijagnoza u "Međunarodnoj klasifikaciji bolesti i srodnih zdravstvenih problema" pod šifrom E66 – pretilost.

Troškovi liječenja debljine u svijetu premašuju nekoliko stotina milijardi dolara. Apsolutni troškovi liječenja oboljenja povezanih s prekomjernom težinom i pretilošću dosežu do čak 9 % ukupnih troškova zdravstvenih sustava razvijenih zemalja [2]. Ti zabrinjavajući razmjeri svjetske epidemije pretilosti, koja nažalost, u sve većoj mjeri polako zahvaća i zemlje u razvoju, mogu se ilustrirati brojnim epidemiološkim studijama. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, 2005. godine na svijetu je bilo oko 1,6 milijardi osoba starijih od petnaest godina s prekomjernom težinom, a procjenjuje se da će do 2015. taj broj doseći 2,3 milijarde, od čega će čak 700 milijuna osoba biti pretilo, s ITM preko 30 [3]. Ukoliko se trend porasta epidemije pretilosti nastavi tempom kakav je zabilježen od sedamdesetih godina prošlog stoljeća do danas, neke projekcije govore kako bi cjelokupna odrasla populacija u Sjedinjenim Američkim Državama do 2048. mogla imati prekomjernu težinu ili biti pretila [4].

Osobito važan problem je i porast udjela pretilih među ženama reproduktivne dobi, što ima negativne posljedice na plodnost, tijekom trudnoće, ali i kontracepciju. U SAD-u je, primjerice, čak 29 % žena u dobi od 20 do 39 godina pretilo [5]. Kod pretilih žena znatno se češće javljaju ozbiljne zdravstvene tegobe u trudnoći, koje uključuju gestacijski dijabetes, povišeni krvni tlak, preeklampsiju, a povećan je i rizik od smrtnosti novorođenčadi te malformacija ploda [6].

Vrlo je zabrinjavajući trend sve većeg udjela pretilosti među djecom i mladima. Najveći broj istraživanja kod ove populacije provodi se u SAD-u, gdje je pretilost među djecom od 6 do 11 godina porasla čak četiri puta, sa 4 % sedamdesetih godina prošlog stoljeća na 17 % u razdoblju od 2003. do 2006. [7]. Uzme li se u obzir podatak kako je vjerojatnost da pretilo dijete odraste u pretilu odraslu osobu veća od 70 %, a imajući na umu sve zdravstvene rizike koje pretilost sa sobom donosi, očit je značaj prevencije i održavanja normalne tjelesne težine već od najranije dobi.

Situacija u Hrvatskoj također je zabrinjavajuća. Prema podacima iz 2003. godine, čak 43 % muškaraca i 34 % žena imalo je prekomjernu težinu, dok je u odnosu na prethodno razdoblje (1997.–1999. godine) značajno porastao broj pretilih osoba (za više od 38 %), te je dosegno 20 % kod muškaraca i 21 % kod žena [8]. Iako je u apsolutnim vrijednostima još uvijek jednoznačen, posebno alarmantan je podatak kako je pretilost kod žena u dobi od 18 do 34 godine porasla u tom razdoblju za čak tri puta, s 1,5 % na 6,3 %.

Zdravstveni rizici pretilosti

Ljudski se rod tijekom povijesti znatno češće suočavao s razdobljima gladi negoli obilja. Stoga je ljudski organizam ustrojen tako da se nastoji zaštititi od gubitka tjelesne mase te pohraniti eventualni suvišak energije (tzv. štedljivi genotip) [9]. Međutim, takav štedljivi genotip prestaje biti pogodan za suočavanje s izazovima modernog načina života obilježenog širokom dostupnošću energijom bogatih namirnica, promjenama u prehranbenim navikama i smanjenom tjelesnom aktivnošću.

Pretilost nastaje uslijed promjena u energetske ravnoteži tj. u regulaciji unosa, potrošnje i pohrane energije dobivene konzumacijom hrane. U ostvarivanje te ravnoteže uključeni su brojni fiziološki procesi koji reguliraju tjelesnu masu i metabolizam, osjećaj sitosti i gladi, kako na razini središnjeg živčanog sustava, tako i popratnih gastrointestinalnih odgovora na unos hrane.

Debljina uzrokuje pogubne posljedice u svim tjelesnim sustavima, a smrtnost je 12 puta veća u osoba čija je tjelesna masa dva puta veća od idealne tjelesne mase [1]. Prekomjerna tjelesna težina znatno povećava opasnost za razvoj čitavog niza kroničnih bolesti, od diabetesa tipa 2, kardiovaskularnih bolesti, metaboličkog sindroma do artritisa. Pod pojmom metaboličkog sindroma podrazumijeva se skup poremećaja koji uključuje promjene u regulaciji masti, neosjetljivost na inzulin, povišeni krvni tlak 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 [10], ezofagealnog adenokarcinoma [11], kolorektalnih karcinoma [12] do raka dojke i cervikalnog karcinoma [6].

Dokazana je povezanost pretilosti s povećanim rizikom razvoja postoperativnih infekcija nakon različitih operativnih zahvata [13, 14] te povećanim rizikom od bolničkih infekcija (osobito plućnih i infekcija rana) kod traumatoloških pacijenata [15]. Osim toga, povišeni ITM povezan je s većom podložnošću akutnim infekcijama dišnog sustava, naročito kod pretilih žena i djece [16]. Unatoč činjenici da je smrtni ishod kod pandemijske gripe uzrokovane virusom H1N1 vrlo često zabilježen zbog komplikacija kod inače zdravih ljudi, nekoliko studija ukazuje kako je pretilost povezana s težim kliničkim tijekom bolesti i predstavlja čimbenik rizika za razvoj težih komplikacija [17].

Posljednjih godina sve veći broj istraživanja ukazuje na negativan utjecaj pretilosti na funkcioniranje imunološkog sustava, a time i sposobnost organizma za adekvatnu obranu od infekcija. Brojne su stvari u upotrebi kao učinkoviti imunomodulatori, a posebno treba pri tome naglasiti pojedine biljke poput imele, ehinacee, minerale cink i selen te biološki aktivne spojeve iz hrane koji sve

više postaju polazne tvari za sintezu novih učinkovitih lijekova [18].

Uloga masnog tkiva

Masno tkivo ne služi samo kao spremnik za suvišak energije nego ujedno obavlja važne funkcije. Raspodjela masnog tkiva također je od važnosti. Ovisno o predominaciji masnog tkiva na pojedinim dijelovima tijela razlikujemo abdominalni tip debljine (nakupljanje masnog tkiva u trbuhu, naročito visceralnog) koje je rizičnije po zdravlje od ginoidnog tipa debljine (nakupljanje masnog tkiva oko bokova).

Dodatne funkcije masnog tkiva (endokrine i imunološke) primarno se ostvaruju izlučivanjem različitih hormona i citokina iz bijelog masnog tkiva (BMT). Visceralno masno tkivo prepoznato je kao primarni čimbenik u razvoju metaboličkih bolesti i neosjetljivosti na inzulin [19]. Adipociti (masne stanice) igraju glavnu ulogu u nastajanju metaboličkog sindroma jer obavljaju ključne funkcije u regulaciji skladištenja i održavanju ravnoteže energije. Budući da je u tom procesu inzulin posebno važan kao kontrolni signalni mehanizam sinteze i pohrane rezervnih ugljikohidrata, proteina i masti, jasno je da je neosjetljivost na inzulin usko povezana s pretilošću. Inzulinska neosjetljivost u adipocitima dovodi do porasta lipolize i do otpuštanja slobodnih masnih kiselina i glicerola u cirkulaciju gdje njihova prisutnost i iskorištavanje izravno utječe na razvoj inzulinske neosjetljivosti u skeletnim mišićima kao i do povećanog stvaranja i otpuštanja glukoze iz jetre [20]. Rizik pri nastajanju dijabetesa 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 [21].

BMT proizvodi i izlučuje hormone i citokine koji se zajednički često nazivaju adipokini (adiponektin, leptin, rezistin i plazminogen-aktivator inhibitor 1 (PAI-1), TNF- α , IL-6, MCP-1, IL-1). Adiponektin, "dobar adipokin", ima jako imunosupresivno djelovanje, a njegova razina negativno je korelirana s ITM, količinom masnog tkiva, razinom inzulina i neosjetljivošću na inzulin [22]. Leptin (produkt gena *ob*) sudjeluje u regulaciji osjećaja sitosti i unosa hrane, a genetički nedostatak leptina dovodi do nekontroliranog unosa hrane i do morbidne pretilosti (*ob^{-/-}* genotip) [23]. Za razliku od adiponektina, leptin ima imunostimulativno djelovanje, aktivira polimorfonuklearne neutrofile, djeluje antiapoptotički, potiče proliferaciju T limfocita, djeluje na produkciju citokina te aktivira monocite/makrofage. [24]. Osim toga imune funkcije u masnom tkivu obavljaju i upalni citokini TNF- α , IL-6, MCP-1 i IL-1. Navedeni citokini i kemokini su izravno

uključeni u uspostavljanje neosjetljivosti na inzulin i u razvoj kronične upale [25]. Brojna istraživanja ističu TNF- α kao glavnog čimbenika upale u BMT, opisujući ga kao pro-upalnu molekulu izravno povezanu s pretilošću uzrokovanom inzulinskom neosjetljivošću. Naime, poznato je da adipociti na svojoj membrani prikazuju TNF receptore te da se u masnom tkivu pretilih osoba prekomjerno proizvodi TNF- α (čija se sinteza smanjuje paralelno sa smanjenjem tjelesne težine pretilih pojedinaca) [26]. TNF- α inducira neosjetljivost na inzulin preko složenih molekulskih mehanizama koji uključuju između ostalog fosfatazu MKP-4/DUSP-9, SOCS-3 protein (supresor citokinskog signala), C-reaktivni protein te supstrat inzulinskog receptora IRS-1 [25]. Neutralizacija razine TNF- α dovodi do povećanja osjetljivosti na inzulin te se na tom principu zasniva i mehanizam djelovanja pojedinih lijekova za tretman dijabetesa. Zanimljiva je i činjenica da miševi koji ne mogu sintetizirati TNF- α , ne razvijaju neosjetljivost na inzulin kao posljedicu pretilosti. Brojna istraživanja također pokazuju poveznicu TNF- α s transkripcijskim faktorom NF- κ B, koji kontrolira ekspresiju 400 različitih gena, od kojih je većina povezana s upalnim procesima općenito, pa tako i s upalnim procesima uzrokovanim pretilošću i inzulinskom neosjetljivošću. Nadalje, akumulacija lipida u jetri dovodi do upale uslijed aktivacije NF- κ B i njime uzrokovane sinteze upalnih citokina (TNF- α , IL-6, MCP-1, PAI-1) koji uzrokuju lokalnu i sistemsku inzulinsku neosjetljivost. Pojedini lijekovi za tretman dijabetesa, u svom mehanizmu djelovanja također "ciljaju" na smanjenje i supresiju nastanka NF- κ B [27–29].

Uz sve navedeno, dodatno se u masnom tkivu nakupljaju i makrofazi. Oni luče vlastiti spektar citokina te tako doprinose pogoršanju upalnog procesa [30]. Makrofazi također inhibiraju diferencijaciju masnih stanica, adipocita što rezultira njihovom hipertrofijom, promjenama u sekreciji adipokina te konačno pohranom masti u jetri, mišićima i ostalim ne-masnim tkivima. Uzroci nakupljanja makrofaga u masnom tkivu pretilih osoba nisu do kraja razjašnjeni, no nekoliko vjerojatnih objašnjenja uključuje promjene adipocitnih signala, indukciju metaboličke endotoksemije potaknute neadekvatnom prehranom, smanjenu angiogenezu, a možda najvažniji razlog leži u konstantnoj lokalnoj hipoksiji adipocita. [31] Zbog svega navedenog danas se smatra da je pretilost kronična perzistirajuća upalna bolest karakterizirana niskom razinom upalnih procesa [32].

Probavni sustav – izvor zdravlja i bolesti?

Gastrointestinalni trakt primarno je mjesto interakcije domaćina i njegovih mikrobijalnih simbionata, a brojna istraživanja na ovom području pokazala su važnost međudjelovanja bakterija i imunološkog sustava u održavanju zdravlja i pri nastanku bolesti. Dva su osnovna aspekta ovog međuodnosa istraživana u kontekstu razvoja pre-

tilosti – utjecaj crijevnih mikroorganizama na iskoristivost energije iz hrane te na razvoj i funkciju imunološkog sustava.

1. Energetska ravnoteža organizma pod utjecajem je mikroorganizama

U održavanju energetske ravnoteže organizma veliku ulogu igraju mikroorganizmi prisutni u probavnom traktu. Kako bi što bolje razumjeli kako mikrobi reguliraju metabolizam domaćina, znanstvenici danas koriste brojne napredne "-omika" tehnologije (genomika, proteomika, transkriptomika, metabolomika, metagenomika...). Metagenomske analize uključuju izravnu analizu gena iz složenih polimikrobnih uzoraka (kao što su intestinalne mikrobiote). Analize ovog tipa potrebne su zato što je velika većina tih mikroorganizama teško "uzgojiva" na klasičnim mikrobiološkim podlogama. Sveukupni mikroorganizmi prisutni u/n ljudskom organizmu nazivaju se ljudski mikrobiom.

Podaci proizašli iz analize mikrobioma oblikovali su nove spoznaje o simbiotskom odnosu crijevne mikroflore i čovjeka [33, 34]. Štoviše, dinamičan odnos crijevnih mikroorganizama i intestinalnog imunološkog sustava ključan je za njegov pravilan razvoj i ravnotežu [35]. Mikroorganizmi sadržani u crijevima "podučavaju" naš imunološki sustav na toleranciju benignih, bezopasnih antigena, uz istodobno razvijanje spremnosti na brzu reakciju u slučaju prisutnosti patogenih antigena.

Humani probavni trakt nastanjen je s iznimno velikim brojem raznovrsnih bakterija (čak 500–1000 vrsta) koji varira od 10^3 u proksimalnom dijelu crijeva, do čak sveukupno 10^{11} bakterija po mililitru prisutnih u kolonu. Ukupan broj bakterijskih stanica u ljudskom crijevu deset puta nadilazi ukupan broj svih stanica organizma. Uspostava ekološkog sustava crijevne mikroflore počinje s rođenjem, a razvija se ovisno o raznim čimbenicima u okolišu tijekom djetinjstva i u odrasloj dobi. Specifičnost ko-evolucije domaćina i njegove mikroflore je u simbiotskom odnosu koji objema stranama osigurava dodatne prednosti u preživljavanju. Mikroorganizmi dobivaju stanište i hranjive tvari dok domaćin dobiva dodatni metabolički kapacitet uslijed procesiranja inače neprobavljivih polisaharida, reguliranja pohrane masti, biosinteze esencijalnih vitamina, te metabolizma ksenobiotika [36]. Na taj način bakterije crijevne mikroflore, koje se danas sve češće nazivaju i crijevne mikrobiote, utječu značajno na raspoloživost i apsorpciju hranjivih tvari i regulaciju energetske ravnoteže u organizmu pa time mogu izravno doprinijeti nastanku pretilosti.

Nepobitni dokazi o važnosti mikroflore u iskorištavanju energije iz hrane i stvaranju masnog tkiva proizašli su iz brojnih eksperimenata u gnotobiotičkim modelima na tzv. "germ-free" miševima (miševi uzgojeni u sterilnim uvjeti-

ma, pa stoga nisu kolonizirani ni komenzalnim ni patogenim bakterijama) [37–42]. Istraživanja provedena u tim modelima pokazala su kako je strukturni i funkcionalni razvitak gastrointestinalnog epitela i propusnost crijeva usko povezan s prisutnošću mikroba u crijevu. Osim toga pokazano je da i u fiziološkim i u patološkim uvjetima crijevne mikrobiote povećavaju ekstrakciju energije iz hrane tako što moduliraju ekspresiju gena zaduženih za metabolizam ugljikohidrata te posljedično lipogenezu u jetri i stvaranje zaliha masti [37]. Ti su "germ-free" miševi imali značajno manje masnog tkiva nego kontrolna skupina koja je bila kolonizirana crijevnom florom konvencionalnih miševa i kao takvi bili su zaštićeni od pretilosti uzrokovane unosom hrane. Osim toga pretilost je povezana s različitim sastavom crijevne mikrobiote. Primjerice, kod pretelih miševa (*ob⁻/ob⁻* genotip) povećan je udio bakterija iz roda *Firmicutes*, a manji je udio bakterija iz roda *Bacteroides* [43]. U ljudi je dokazano da pretile osobe, za razliku od vitkih, posjeduju varirajući omjer dvaju učestalih rodova, *Firmicutes* i *Bacteroides*, smanjenu raznolikost crijevnih mikroorganizama [44], a kod pretelih osoba metagenom je obogaćen genima povezanim s metabolizmom ugljikohidrata i lipida, čime se povećava kapacitet za ekstrakciju energije iz hrane [45]. U nekoliko opsežnih kliničkih studija u kojima je praćen utjecaj režima prehrane na smanjenje tjelesne težine i sastav crijevne mikroflore, pokazano je da s gubitkom težine dolazi do porasta udjela bakterija iz roda *Bacteroides* [43, 46, 47], što je u skladu i s rezultatima dobivenim praćenjem flore kod blizanaca, gdje je kod pretelih predstavnika smanjen udio roda *Bacteroides* [45]. Osim toga smanjena razina bifidobakterija u ranom djetinjstvu povećava rizik za razvoj pretilosti u odrasloj dobi [48]. Ipak, pojedine studije nisu potvrdile navedene rezultate [49, 50] što se objašnjava različitim metodološkim pristupima u analizi crijevne mikrobiote kao i utjecajem vremena potrebnog da se promijenjena mikrobiota uravnoteži.

Metaboličkim analizama (izučavanje profila ukupnih malih molekula nastalih metabolizmom unutar stanica, tkiva ili organa) potvrđeno je da mikroorganizmi utječu na važne metaboličke procese u crijevu uključujući metabolizam ugljikohidrata, amino kiselina, lipida, u jetri na proteolizu, metabolizam energije i ksenobiotika pa čak i na povećanje razine nekih neurotransmitera čime mogu izravno utjecati na ponašanje [51, 52]. Sve navedene činjenice ukazuju na crijevu mikrobiotu kao na važan čimbenik u uspostavi i održavanju ljudskog zdravlja.

2. Regulacija i razvoj funkcije imunološkog sustava pod utjecajem mikroorganizama

Praćenjem razvoja imunološkog sustava kod "germ-free" miševa uočeno je niz razlika u razvoju crijeva u odnosu na jedinke s normalnom crijevnom florom. Za razliku od koloniziranih životinja, "germ-free" miševi poka-

zuju promjene u razvoju tankog crijeva (smanjen ukupan broj i količina stanica u Payerovim pločama i limfoidnim folikulima, stanjena lamina propria, te manji broj plazma stanica) i mezenternih limfnih čvorova (manja veličina, broj stanica, manje plazma stanica te smanjena funkcija CD4+CD25+ T stanica), smanjen broj i funkciju CD8+ i CD4+ T limfocita u crijevu. Osim toga, smanjena je funkcija intestinalnih epitelnih stanica, razina ATP-a i sinteza sekretornog IgA. "Germ-free" miševi podložniji su infekcijama (bakterijama, virusima i parazitima), a ujedno imaju i smanjen antigen specifični sistemski imunološki odgovor [53].

Dobro je poznato da bakterije vrlo uspješno aktiviraju upalni odgovor imunološkog sustava te se upravo zato danas crijevne mikrobiote izučavaju kao čimbenici povezani s nastankom i održavanjem upale u metaboličkim bolestima. Kako se pretilost, zajedno s dijabetesom, svrstava u skupinu metaboličkih bolesti koje karakterizira niska razina upale, u novije vrijeme intenzivno se istražuje povezanost crijevnih mikrobiota, metabolizma i upale, a sve je više dokaza kako je riječ o međusobno usko povezanim procesima. Crijevne mikrobiote mogu utjecati na metabolizam domaćina modulirajući upalne signalne puteve u prvom redu preko *Toll-like* receptora (TLR) [54]. Primjerice, miševi bez funkcionalnog TLR-4 slabije stvaraju masno tkivo i imaju pojačan metabolizam glukoze prvenstveno uslijed promijenjenog upalnog statusa perifernih organa dok miševi s nefunkcionalnim TLR-5 razvijaju hiperfagiju i metabolički sindrom. Ovi se fenotipovi mogu povezati s promjenama u crijevnim mikrobiotama. Poznato je da je gastrointestinalni trakt spremnik LPS-a (lipopolisaharida) iz vanjske membrane gram-negativnih bakterija te je dokazano da se LPS kontinuirano apsorbira iz crijeva i da se detektira u niskoj koncentraciji u krvi zdravih osoba. Također, LPS se pronalazi u povećanim količinama kod pacijenata oboljelih od dijabetesa tipa II i njegova količina korelira s razinom inzulina. U modelu eksperimentalnih životinja pokazano je da je povećana razina LPS-a u krvi bila jednaka kod miševa koji su primali 4-tjedni kronični tretman niskim koncentracijama LPS-a i onih koji su se hranili masnom hranom [42]. U obje skupine miševa razine krvne glukoze i inzulina bile su jednake, te se s povišenom razinom LPS-a povećao i udio makrofaga u masnom tkivu kao inzulinska neosjetljivost. Takvo stanje, s 2–3 puta povišenom razinom LPS-a u plazmi, naziva se metabolička endotoksemija. Predloženi mehanizmi apsorpcije LPS-a i posljedične metaboličke endotoksemije uključuju hilomikronski transport i/ili vanstanično "curenje" kroz čvrste spojeve između stanica (engl. tight-junctions) koje se događa uslijed povećane propusnosti crijeva uzrokovane masnom hranom [40, 54, 55]. Iz svega navedenog, može se zaključiti da su LPS i TLR receptori važne karike koje povezuju bakterije, upalu, prehranu i metabolizam i potvrđuju ideju da stanični odgovori na prehranu neravnotežu i infekcije dijele zajedničke signalne puteve.

3. Značaj crijevne mikrobiote u zaštiti od infekcija

Epitel crijeva, crijevne mikrobiote, te urođena i stečena imunost najvažniji su čimbenici u obrani organizma od invazije vanjskih patogena koji u organizam ulaze preko probavnog sustava. Pod pojmom "kolonizacijske otpornosti" podrazumijeva se zaštita od infekcija koju crijevna mikrobiota pruža domaćinu. Ključni mehanizam zaštite je kompeticija za stanište i hranjive tvari u lumenu crijeva. Dodatno, komenzalne bakterije sintetiziraju kratkolančane masne kiseline, slobodne radikale, bakteriocine i bakteriocinima slične molekule koje izravno djeluju na nadolazeće patogene. Prema pojedinim istraživanjima sastav crijevne mikrobiote stvara predispoziciju za kolonizaciju pojedinim bakterijskim vrstama po principu "isto slijedi isto" pa tako mikrobiota bogata laktobacilima olakšava dodatnu kolonizaciju drugim sojevima laktobacila dok povećana prisutnost *E. coli* povećava podložnost infekcijama drugim enterobakterijama [56]. Uslijed prekomjerne upotrebe antibiotika remeti se ravnoteža mikrobiote te dolazi do povećanog rizika od infekcije salmonelama i klostridijama [57]. Također, sastav crijevne mikrobiote utječe i na podložnost, tijek i širenje crijevnih virusnih infekcija iako točan mehanizam još nije razjašnjen. Pored toga, oštećenja probavnog trakta kod pacijenata zaraženih HIV-om bila su povezana s promjenama u crijevnim mikrobiotama i prisutnošću upale što upućuje na povezanost promjena u probavnom sustavu i patogeneze virusa HIV [58].

Liječenje pretilosti

Današnja medicina kao opcije u terapiji pretilosti kod odraslih osoba opisuje nekoliko farmakoloških supstanci poput orlistata, sibutramina, efedrina i kofeina [59, 60]. Orlistat djeluje lokalno u crijevima, smanjujući probavljivost lipida inhibicijom lipaze iz pankresa, pa se masna hrana izlučuje stolicom neprobavljena. Sibutramin se dugo koristio kao lijek protiv debljine, djelujući centralno na CNS, izazivao je smanjenje unosa hrane i povećavao termogenezu, međutim zbog popratnih nuspojava ne preporuča se njegova daljnja upotreba. Kombinacije efedrina i kofeina stimuliraju oksidaciju masnih kiselina i termogenezu te smanjenje unosa hrane. Ipak, kod najtežih oblika pretilosti, za sada je kao jedina doista učinkovita metoda liječenja pretilosti prihvaćena barijatrička kirurgija koja obuhvaća više različitih kirurških zahvata želučanih premosnica, smanjivanja želuca pomoću implantiranog medicinskog uređaja, otklanjanjem dijela želuca, a sve s ciljem smanjenja funkcionalnog volumena želuca 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.

Noviji ne-invazivni koncept bioloških intervencija u sastav i promjenu svojstava crijevnih mikroorganizama uvriježio se i u zapadnjačkoj komplementarnoj medicini kao važan element u prevenciji bolesti. Tako se danas sve više istražuju i uvode u kliničku praksu nutritivne sastavnice poput probiotika, prebiotika i simbiotika [61].

Probiotici su živi mikroorganizmi (najčešće iz rodova *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* i *Bacillus*) koji pozitivno utječu na održavanje mikrobiološke i imunološke ravnoteže u crijevu, prebiotici su nerazgradive sastavnice hrane (na pr. inulin, oligofruktoza, arabinoksilani...) koje potiču rast i/ili aktivnost povoljnih crijevnih bakterija, dok su simbiotici mješavine prebiotika i probiotika koje poboljšavaju implementaciju i preživljavanje probiotika po ulasku u probavni trakt selektivnim poticanjem rasta i metabolizma korisnih skupina bakterija [62].

Probiotičke bakterije blagotvorno djeluju na opće stanje organizma, ali i dodatno štite te ublažavaju simptome raznih bolesti [63]: infekcija i proljeva uzrokovanih prekomjernom primjenom antibiotika, upalne bolesti crijeva, kolorektalnih karcinoma, pankreatitisa, virusnih infekcija (uključujući HIV [55]), tumora, alergija, reumatoidnog artritisa, do diabetesa tipa II i pretilosti [64].

Vrlo obećavajući rezultati iz nekoliko studija upućuju na činjenicu da upotreba probiotičkih bakterija može dovesti do smanjenja tjelesne mase. Pokazano je da uzimanje *Lactobacillus rhamnosus* PL60 tijekom 8 tjedana dovelo do gubitka težine kod hranom udebljanih miševa bez uočenog smanjenja unosa hrane [65]. U drugoj studiji "germ free" miševi kolonizirani su crijevnom mikrobiotom dojenčadi te su nakon toga svakodnevno dva tjedna primali probiotičke dodatke prehranbeni (*L. paracasei* ili *L. rhamnosus*). Analizom metaboličkih učinaka kod tako tretiranih miševa 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 promjenom različitih metaboličkih putova, uključujući metabolizam aminokiselina, metilamina i kratkolančanih masnih kiselina [66]. 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 [67, 68]. Velika studija 10-godišnjeg praćenja razvoja djece čije su majke perinatalno (4 tjedna prije poroda) i postnatalno (6 mjeseci nakon poroda) uzimale *L. rhamnosus* kao probiotički pripravak, pokazalo je da ovakva intervencija dovodi do regulacije tjelesne težine i sprječava pretjerano dobivanje na težini u prvim godinama života djeteta [69]. Grupa autora iz Japana pokazala je kod štakora da konzumiranje *L. gasseri* dovodi do smanjenja mase mezenternog masnog tkiva,

veličine adipocita kao i koncentracije leptina u serumu [70]. 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 [71].

Osim što potiču rast probiotičkih bakterija, prebiotici su i sami pokazali korisne učinke u liječenju debljine. Tako je konzumiranje oligofruktoze kod štakora doprinijelo ukupnom smanjenju unosa hrane (kako standardne tako i hrane bogate mastima) te posljedično smanjenju tjelesne težine kao i moduliralo razine endogenih crijevnih peptida koji reguliraju osjećaj gladi: peptida sličnog glukagonu (glucagon-like peptide 1) i grelina [72, 73]. Kod ljudi normalne tjelesne težine uzimanje oligofruktoze također dovodi do povećanja osjećaja sitosti nakon obroka i smanjenja ukupnog unosa hrane za 5 % u usporedbi s placebo [74]. I neprobavljivi oblici škroba, inulin i vlakna iz jezgre Australske slatke lupine smanjuju osjećaj gladi i unos hrane [75].

Dodatno, primjena sinbiotičkih dodataka prehrani, poput kombinacije laktobacila s manitolom, oligofruktozom ili inulinom, doprinosi snižavanju razine triglicerida u plazmi, ukupnog te LDL-kolesterola u modelu hiperkolesteremije u svinja [76].

Usljed svega navedenog može se zaključiti da konzumacija probiotika, prebiotika i sinbiotika kao metoda reguliranja homeostaze crijevnog ekosustava ima blagotvorne učinke na zdravlje osoba normalne tjelesne težine, ali i na poboljšanje brojnih rizičnih parametara kod pretilih osoba (smanjenje tjelesne težine, masnog tkiva, osjećaja gladi, razine kolesterola i lipida).

Postavlja se pitanje mogu li cijevne mikrobiote biti potencijalni nov terapijski pristup i nove mete u razvoju novih inovativnih lijekova za liječenje pretilosti i srodnih metaboličkih bolesti. Neki su autori pokazali da se djelovanjem antibiotika na pretili miševu može poboljšati glikemički status pri gladovanju, tolerancija na glukozu, smanjenje jetrenih triglicerida, povećanje jetrenog glikogena, smanjenje razine LPS-a u krvi te povećanje razine adiponektina što ukazuje na mogućnost primjene antibiotika u liječenju metaboličkih bolesti u budućnosti [77, 78].

"Svaki gubitak je dobitak"

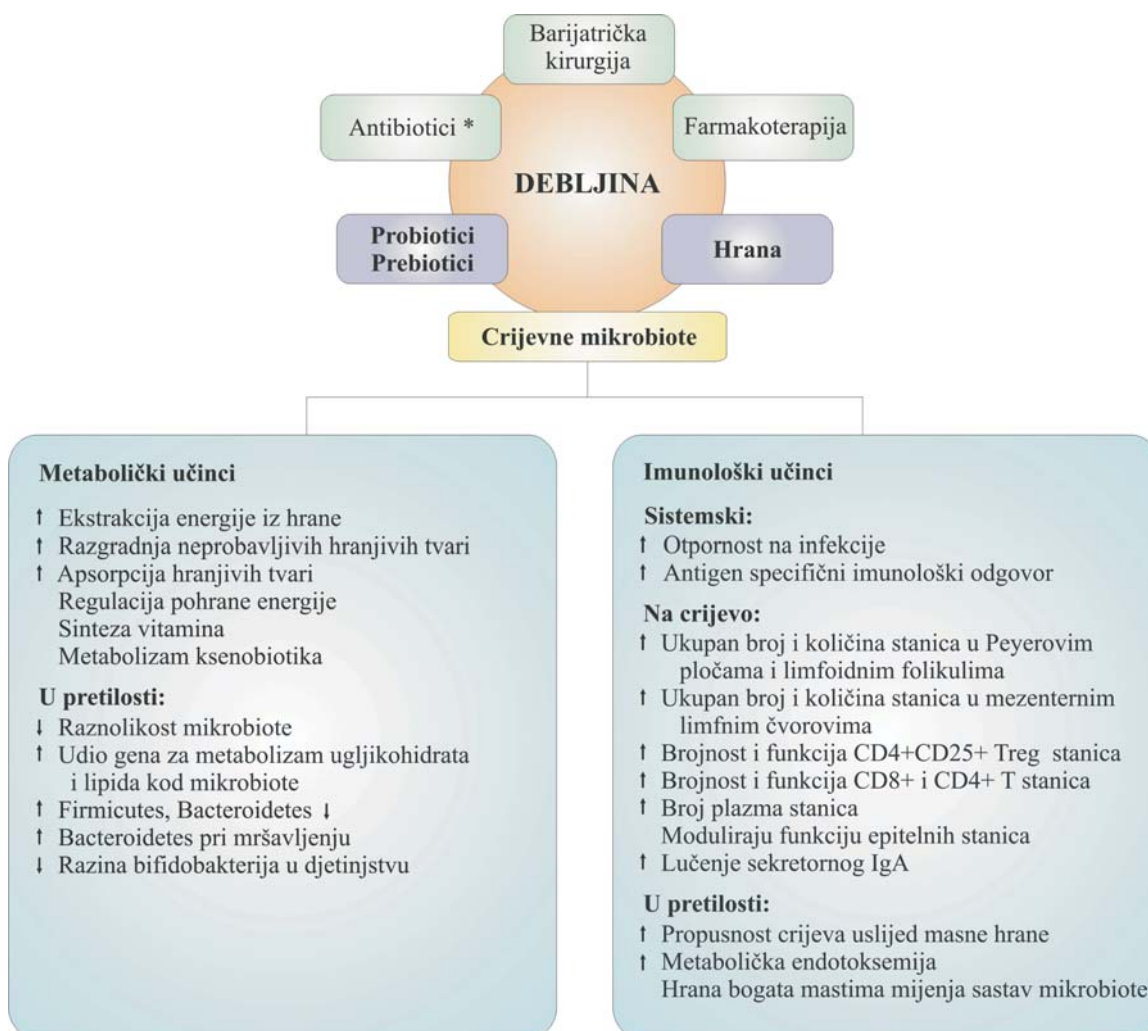
U svijetu se danas po prvi puta izjednačio broj osoba koje imaju prekomjernu tjelesnu masu s brojem osoba koje svakodnevno gladuju. U industrijaliziranim zemljama Zapada, sve više ljudi pogrešno se hrani prvenstveno uslijed pomanjkanja vremena pa se čak i takva hrana naziva "fast food" ili "brza hrana". U takvoj vrsti prehrane dolazi

do neravnoteže među hranjivim sastojcima. Povećan je unos masti koje pretežito sadrže zasićene masne kiseline, a smanjen unos mononezasićenih masnih kiselina koje se nalaze u uljima. Povećao se unos disaharida saharoze (običnog šećera), iako je ukupni unos ugljikohidrata smanjen te se premalo koriste namirnice bogate monosaharidima (npr. med, voće) i one koje su uglavnom sastavljene od složenih šećera (polisaharida) poput škroba i celuloze (žitarice, voće i povrće) [79]. Krajnji učinak neadekvatne prehrane od djetinjstva ispoljava se u srednjoj životnoj dobi kada se počinju osjećati prve posljedice loših prehranbenih navika i javljaju se simptomi koji ukazuju na početak kroničnih bolesti.

Već pri pojavi prvih simptoma kroničnih bolesti, ali idealno i prije toga, kod osoba s predispozicijom nakupljanju suviška kilograma potrebno je podići svijest o važnosti i dalekosežnim učincima pravilne prehrane. Naime prehranom utječemo na sastav crijevne mikrobiote

i imunološki sustav, a time izravno i neizravno na organizam u cjelini. Složenost različitih utjecaja na crijevne mikrobiote kao i utjecaja crijevnih mikrobiota na organizam prikazana je na Slici 1.

Važnost održavanje niskog upalnog statusa organizma putem prehrane potvrđena je i u kliničkim studijama [80]. Kontrolirana i zdrava prehrana trebala bi sadržavati sve hranjive komponente u kojoj bi omjer nutritivno važnih sastojaka trebao biti 10–15 % bjelančevina, 25–30 % masti (od toga 10 % zasićene, 10 % nezasićene i 10 % polinezasićene) i 55–60 % ugljikohidrata. Obroci bi trebali biti raspoređeni u pet obroka kroz dan, uključivati tri glavna obroka (doručak, ručak i večera) i dva međuobroka (jutarnji i poslijepodnevni) pri čemu valja voditi računa da se većina ugljikohidrata jede ujutro, do poslijepodnevni sati, a da se tijekom poslijepodneva i večeri konzumira kuhano povrće i hrana bogata bjelančevinama. Najbolja se ravnoteža energetske unosa postiže ako se voće i fermentirani



Slika 1. Složeni utjecaji crijevne mikrobiote na organizam te terapijske intervencije u liječenju pretilosti (uvedene u kliničku praksu i eksperimentalne*).

Figure 1. Complex influences of gut microbiota on the organism and therapeutic interventions in obesity treatment (used in clinical practice and experimental*)

mlječni proizvodi konzumiraju u međuobrocima [81]. Još jedna važna preporuka je konzumacija uglavnom lisnatog i celulozom bogatog povrća ("obojano povrće") bogatog polifenolima i biofenolima koji inhibiraju NF- κ B i time mogu doprinijeti smanjenju razine upale prisutne kod osoba s povećanom tjelesnom težinom i metaboličkim bolestima [80].

Gubitak od samo 5–10 % tjelesne mase kod pretilih osoba već uvelike povećava kvalitetu života i smanjuje razorno djelovanje čimbenika povezanih s kroničnim upalnim procesima koji na kraju mogu dovesti do metaboličkog sindroma. Provedba kontroliranog mršavljenja uz gubitak/potrošnju dodatnih 500–800 kcal na dan kroz smanjeni unos i povećanu tjelesnu aktivnost rezultirat će poboljšanjem općeg stanja organizma, gubitkom 1,5–2 kg mjesečno i u konačnici spriječiti ponovno vraćanje izgubljene mase jer se neće aktivirati tzv. yo-yo efekt do kojeg dolazi ako organizam naglo mršavi.

I na kraju, *quo vadis obesity?*

Naglasimo još jednom da je glavni razlog koji je 2004. godine uvjerio američko zdravstvo da poremećaju debljine dodijeli status bolesti, jest mišljenje nekolicine uglednih znanstvenika koji su smatrali da bi takav postupak službeno priznao mršavljenje kao postupak potreban za očuvanje kvalitete života i tako probio barijere u SAD-u, u kojem se dulje od 40 godina pretilost smatrala estetskim problemom. Pozitivan pristup liječenju pretilosti i prihvaćenje tog sindroma kao čimbenika opasnog za zdravlje rezultirao je pokretanjem programa u nacionalnim bolnicama koji će se konkretno baviti operacijskim zahtjevima, dijetama i vježbama za pretilu ljude.

Potrebno je naglasiti da se na nastanak pretilosti može utjecati preventivno još tijekom intrauterinog razvoja i naročito u ranom djetinjstvu budući se broj masnih stanica definira do pete godine života. Nakon toga dolazi samo do povećanja volumena već postojećih adipocita [82]. Prevencija je najveći zalog za bolju budućnost, stoga moramo zajednički djelovati sada protiv pretilosti, bolesti koja je zahvatila i našu zemlju. Hrvati pripadaju među najdeblje ljude u Europi [83, 84], a prema tradiciji trebali bi, prateći načine prehrane naših predaka i provodeći umjerenu tjelesnu aktivnost, biti među vitkim nacijama.

Literatura

- [1] Jelcic J, Korsic M. Obesity as a medical and public health problem. *Lijec Vjesn* 2009; 131: 279–85.
- [2] Withrow D, Alter DA. The economic burden of obesity worldwide: a systematic review of the direct costs of obesity. *Obes Rev* 2011; 12: 131–41.
- [3] World Health Organization. Obesity and Overweight. Fact Sheet No. 311. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2006.
- [4] Wang Y, Beydoun MA, Liang L, Caballero B, Kumanyika SK. Will all Americans become overweight or obese? Estimating the progression and cost of the US obesity epidemic. *Obesity* 2008; 16: 2323–30.
- [5] Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999–2002. *JAMA* 2004; 291: 2847–50.
- [6] Kulie T, Slattengren A, Redmer J, Counts H, Eglash A, Schragger S. Obesity and women's health: An evidence-based review. *J Am Board Fam Med* 2011; 24: 75–85.
- [7] Ogden CL, Carroll MD, Flegal KM. High body mass index for age among US children and adolescents, 2003–2006. *JAMA* 2008; 299: 2401–5.
- [8] Kolčić I, Polašek O, Vuletić S. Scale and dynamics of overweight and obesity epidemic in Croatia. *Obes Facts* 2010; 3: 333.
- [9] Zinn AR. Unconventional wisdom about the obesity epidemic. *Am J Med Sci* 2010; 340: 481–91.
- [10] Saunders D, Seidel D, Allison M, Lyraztopoulos G. Systematic review: The association between obesity and hepatocellular carcinoma – Epidemiological evidence. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1051–63.
- [11] Gary WF. Risk Factors for Esophageal Cancer Development. *Surg Oncol Clin N Am* 2009; 18: 469–85.
- [12] Ning Y, Wang L, Giovannucci EL. A quantitative analysis of body mass index and colorectal cancer: Findings from 56 observational studies. *Obes Rev* 2010; 11: 19–30.
- [13] Turtiainen J, Saimanen E, Partio T, Kärkkäinen J, Kiviniemi V, Mäkinen K, i sur. Surgical wound infections after vascular surgery: Prospective multicenter observational study. *Scand J Surg* 2010; 99: 167–72.
- [14] Gendall K, Raniga S, Kennedy R, Frizelle F. The Impact of Obesity on Outcome after Major Colorectal Surgery. *Dis Colon Rectum* 2007; 50:2223–37.
- [15] Serrano PE, Khuder SA, Fath JJ. Obesity as a Risk Factor for Nosocomial Infections in Trauma Patients. *J Am Coll Surg* 2010; 211: 61–7.
- [16] Karlsson EA, Beck MA. The burden of obesity on infectious disease. *Exp Biol Med* 2010; 235: 1412–24.
- [17] Nguyen-Van-Tam JS, Openshaw PJ, Hashim A, Gadd EM, Lim WS, Semple MG, i sur. Risk factors for hospitalisation and poor outcome with pandemic A/H1N1 influenza: United Kingdom first wave (May–September 2009). *Thorax* 2010; 65: 645–51.
- [18] Parnham MJ, Verbanac D. Mild Plant and Dietary Immunomodulators. U: Parnham MJ, Nijkamp F, ur. *Principles of Immunopharmacology*. Basel: Birkhäuser-Verlag; 2005, str. 391–405.
- [19] Kahn CR, Bruning JC, Michael MD, Kulkarni RN. Knockout mice challenge our concepts of glucose homeostasis and the pathogenesis of diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13(Suppl.6): 1377–84.
- [20] White MF. Insulin signaling in health and disease. *Science* 2003; 302: 1710–1.
- [21] Ryden M, Dicker A, van Harmelen V, Hauner H, Brunberg M, Perbeck L, i sur. Mapping of early signaling events in tumor necrosis factor- α -mediated lipolysis in human fat cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 1085–91.
- [22] Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol* 2002; 147: 173–80.

- [23] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425–32.
- [24] Falagas ME, Kompoti M. Obesity and infection. *Lancet Infect Dis* 2006; 6: 438–46.
- [25] Aggarwal BB. Targeting inflammation-induced obesity and metabolic diseases by curcumin and other nutraceuticals. *Annu Rev Nutr* 2010; 30: 173–99.
- [26] Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 1995; 95: 2409–15.
- [27] Aljada A, Garg R, Ghanim H, Mohanty P, Hamouda W, Assian E, i sur. Nuclear factor- κ B suppressive and inhibitor- κ B stimulatory effects of troglitazone in obese patients with type 2 diabetes: evidence of an antiinflammatory action? *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3250–6.
- [28] Isoda K, Young JL, Zirlak A, MacFarlane LA, Tsuboi N, Gerdes N, i sur. Metformin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor- κ B in human vascular wall cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 611–7.
- [29] Ohga S, Shikata K, Yozai K, Okada S, Ogawa D, Usui H, i sur. Thiazolidinedione ameliorates renal injury in experimental diabetic rats through anti-inflammatory effects mediated by inhibition of NF- κ B activation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007 ;292: F1141–F1150.
- [30] Lumeng CN, Deyoung SM, Bodzin JL, Saltiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes* 2007; 56: 16–23.
- [31] Heilbronn LK, Campbell LV. Adipose tissue macrophages, low grade inflammation and insulin resistance in human obesity. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 1225–30.
- [32] Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 923–34.
- [33] Turnbaugh PJ, Gordon JI. The core gut microbiome, energy balance and obesity. *J Physiol* 2009; 587: 4153–8.
- [34] Ley RE. Obesity and the human microbiome. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 5–11.
- [35] Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. Homeostasis and inflammation in the intestine. *Cell* 2010; 140: 859–70.
- [36] Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307: 1915–20.
- [37] Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, i sur. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718–23.
- [38] Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 979–84.
- [39] Samuel BS, Shaito A, Motoike T, Rey FE, Backhed F, Manchester JK, i sur. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 16767–72.
- [40] Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, i sur. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes* 2008; 57: 1470–81.
- [41] Cani PD, Delzenne NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 1546–58.
- [42] Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, i sur. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007; 56: 1761–72.
- [43] Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 11070–5.
- [44] Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006 ;444: 1022–3.
- [45] Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, i sur. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480–4.
- [46] Nadal I, Santacruz A, Marcos A, Warnberg J, Garagorri M, Moreno LA, i sur. Shifts in clostridia, bacteroides and immunoglobulin-coating fecal bacteria associated with weight loss in obese adolescents. *Int J Obes* 2009; 33: 758–67.
- [47] Santacruz A, Marcos A, Wärnberg J, Martí A, Martín-Matillas M, Campoy C, i sur. Interplay between weight loss and gut microbiota composition in overweight adolescents. *Obesity* 2009; 17: 1906–15.
- [48] Kalliomaki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 534–8.
- [49] Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 894–9.
- [50] Duncan SH, Lopley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, Louis P, i sur. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *Int J Obes* 2008; 32: 1720–4.
- [51] Backhed F, Crawford PA. Coordinated regulation of the metabolome and lipidome at the host-microbial interface. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1801: 240–5.
- [52] Muccioli GG, Naslain D, Bäckhed F, Reigstad CS, Lambert DM, Delzenne NM, i sur. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol* 2010; 6: 392.
- [53] Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9:313–23.
- [54] Caesar R, Fak F, Backhed F. Effects of gut microbiota on obesity and atherosclerosis via modulation of inflammation and lipid metabolism. *J Intern Med* 2010; 268: 320–8.
- [55] Hummelen R, Vos AP, van't Land B, van Norren K, Reid G. Altered host-microbe interaction in HIV: a target for intervention with probiotics. *Int Rev Immunol* 2010; 29: 485–513.
- [56] Stecher B, Chaffron S, Käppli R, Hapfelmeier S, Friedrich S, Weber TC, i sur. Like will to like: abundances of closely related species can predict susceptibility to intestinal colonization by pathogenic and commensal bacteria. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000711.
- [57] Wardwell LH, Huttenhower C, Garrett WS. Current concepts of the intestinal microbiota and the pathogenesis of infection. *Curr Infect Dis Rep* 2011; 13: 28–34.
- [58] Gori A, Tincati C, Rizzardini G, Torti C, Quirino T, Haarman M, i sur. Early impairment of gut function and gut flora supporting a role for alteration of gastrointestinal mucosa in human immunodeficiency virus pathogenesis. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 757–8.
- [59] Bray GA, Tartaglia LA. Medicinal strategies in the treatment of obesity. *Nature* 2000; 404 :672–7.
- [60] Mertens IL, Van Gaal LF. Promising new approaches to the management of obesity. *Drugs* 2000; 60: 1–9.

- [61] de Vrese M, Schrezenmeier J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2008; 111: 1–66.
- [62] Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 1995; 125: 1401–12.
- [63] Dobrogosz WJ, Peacock TJ, Hassan HM. Evolution of the probiotic concept from conception to validation and acceptance in medical science. *Adv Appl Microbiol* 2010; 72: 1–41.
- [64] Cani PD, Delzenne NM. Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9: 737–43.
- [65] Lee HY, Park JH, Seok SH, Baek MW, Kim DJ, Lee KE, i sur. Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1761: 736–44.
- [66] Martin FP, Wang Y, Sprenger N, Yap IK, Lundstedt T, Lek P, i sur. Probiotic modulation of symbiotic gut microbial-host metabolic interactions in a humanized microbiome mouse model. *Mol Syst Biol* 2008; 4: 157.
- [67] Andrade S, Borges N. Effect of fermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* on plasma lipids of women with normal or moderately elevated cholesterol. *J Dairy Res* 2009; 76: 469–74.
- [68] Taranto MP, Medici M, Perdigon G, Ruiz Holgado AP, Valdez GF. Effect of *Lactobacillus reuteri* on the prevention of hypercholesterolemia in mice. *J Dairy Sci* 2000; 83: 401–3.
- [69] Luoto R, Kalliomaki M, Laitinen K, Isolauri E. The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years. *Int J Obes* 2010; 34: 1531–7.
- [70] Hamad EM, Sato M, Uzu K, Yoshida T, Higashi S, Kawakami H, i sur. Milk fermented by *Lactobacillus gasseri* SBT2055 influences adipocyte size via inhibition of dietary fat absorption in Zucker rats. *Br J Nutr* 2009; 101: 716–24.
- [71] Kadooka Y, Sato M, Imaizumi K, Ogawa A, Ikuyama K, Akai Y, i sur. Regulation of abdominal adiposity by probiotics (*Lactobacillus gasseri* SBT2055) in adults with obese tendencies in a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64: 636–43.
- [72] Cani PD, Dewever C, Delzenne NM. Inulin-type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon-like peptide-1 and ghrelin) in rats. *Br J Nutr* 2004; 92: 521–6.
- [73] Cani PD, Neyrinck AM, Maton N, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like Peptide-1. *Obes Res* 2005; 13: 1000–7.
- [74] Cani PD, Joly E, Horsmans Y, Delzenne NM. Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 567–72.
- [75] Archer BJ, Johnson SK, Devereux HM, Baxter AL. Effect of fat replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in men. *Br J Nutr* 2004; 91: 591–9.
- [76] Liong MT, Dunshea FR, Shah NP. Effects of a synbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4962 on plasma lipid profiles and morphology of erythrocytes in hypercholesterolaemic pigs on high- and low-fat diets. *Br J Nutr* 2007; 98: 736–44.
- [77] Cani PD, Delzenne NM, Amar J, Burcelin R. Role of gut microflora in the development of obesity and insulin resistance following high-fat diet feeding. *Pathol Biol (Paris)* 2008; 56: 305–9.
- [78] Membrez M, Blancher F, Jaquet M, Bibiloni R, Cani PD, Burcelin RG, i sur. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J* 2008; 22: 2416–26.
- [79] Verbanac D. O prehrani: što, kada i zašto jesti. 2 izd. Zagreb: Školska knjiga; 2004.
- [80] Sears B, Ricordi C. Anti-inflammatory nutrition as a pharmacological approach to treat obesity. *J Obes* 2011; 201. pii: 431985.
- [81] Verbanac D. Kako kontrolirati tjelesnu težinu. *Farm Tehn* 2003; 7: 5–11.
- [82] Verbanac D. Nutrition habits in pregnant women and early childhood as a tool for obesity prevention. *Paediatr Croat* 2004; 48: 41–5.
- [83] Jelcic J, Baretic M, Korsic M. Comment on Croatian National Consensus on Diagnosis and Treatment of Obesity. *Lijec Vjesn* 2008; 130: 273–5.
- [84] Vuletić S, Polašek O, Kern J, Strnad M, Baklajić Z. Croatian Adult Health Survey—a tool for periodic cardiovascular risk factors surveillance. *Coll Antropol* 2009; 33 (Suppl.1): 3–9.