

# Utjecaj koronavirusa na crijevnu mikrobiotu

---

Zugan, Sandra

Postgraduate specialist thesis / Završni specijalistički

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:211165>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Sandra Zupan

UTJECAJ KORONAVIRUSA NA CRIJEVNU MIKROBIOTU

Specijalistički rad

Zagreb, 2024.

Poslijediplomski specijalistički studij: Fitofarmacija s dijetoterapijom

Mentor specijalističkog rada: prof. dr. sc. Lidija Bach-Rojecky

Specijalistički rad obranjen je dana 24. srpnja 2024. godine na Farmaceutsko–biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Donatella Verbanac
2. prof. dr. sc. Lidija Bach-Rojecky
3. prof. dr. sc. Blaženka Kos

Rad ima 82 lista.

## **Predgovor**

Specijalistički rad je izrađen pod vodstvom prof. dr. sc. Lidije Bach-Rojecky, na Zavodu za farmakologiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

## **Zahvala**

Školarinu za ovaj studij platila sam zadnjim novcima uštedevine koju su roditelji Grazia i Bruno skupljali za moje obrazovanje. Stvorili su za mene uvjete koje oni sami nisu imali u mladosti. Pružili su mi financije i slobodu izbora profesije koja mi najbolje leži i s kojom mogu najviše doprinijeti pozitivnim promjenama u zajednici. Vječno sam im zahvalna na tome. *Chi ghe mi voio ben? Spero save la risposta.*

Hvala mentorici Lidiji Bach-Rojecky na nepresušnom strpljenju i prihvaćanju moje dvogodišnje spisateljske blokade. Njeno predavanje na studiju mi se urezalo u pamćenje i duboko me inspiriralo. Svoj posao želim raditi s jednakim žarom s kojim Profesorica predaje svojim studentima.

Hvala svim Profesorima ovog studija na nesebično pruženom znanju iz fitoterapije. Učinili su me boljim nutricionistom.

Hvala mojim pacijentima koji su mi davali razlog da ustrajem u istraživanju i pisanju. Upravo njima posvećujem ovaj rad.

Hvala Snježani, Miji i Andreji, trima izvanrednim farmaceutkinjama s kojima mi je (bila) čast raditi. Snježana me dovela do ovog studija, Miju sam na studiju upoznala, a studij me doveo do Andreje.

Hvala Marcu i Tihani, koji me nisu nijednom pitali jesam li napisala rad - jer me poznaju i prepoznaju kada je dobro postavljati pitanja, a kada ih je bolje ne postavljati.

Hvala Eni, Jurici, Antoniju, Josipu, Andriji, Ivanu-Christianu i Ani na pomoći u svim dobima dana i noći. Hvala na posuđenim knjigama. Hvala na snalažljivosti u pronalasku znanstvenih radova koje ni sci-hub nema. Hvala na smirivanju kada su me izluđivale različite tvrdnje u različitim radovima. Hvala na objašnjenju biasa u statistici meni koja poznajem samo K-pop biase. Hvala na strpljivosti kada sam iz trećeg pokušaja konačno razumjela razliku između alfa i beta raznolikosti. Hvala na jokeru pitaj virologa od povjerenja. Hvala na instrukcijama iz Mendeleya jer se protivim ručnom pisanju citata u doba umjetne inteligencije. Hvala na bezuspješnom pokušaju uvjeravanja da će mi nedostajati pisanje znanstvenih radova jednom kada napišem ovaj rad.

Hvala Zagrebu i Umagu na fenomenalnim ljudima koji su ušli u moj život. Zajedno se smijemo, zajedno plešemo, zajedno se borimo, zajedno rastemo. Moje su sestre raspršene po svijetu, ali uvijek tu - uz mene. Tusen takk. Merci. Danke. Thank you. Dėkuji. Grazie. Sađol.

Glazba je moja hrana. Hvala violini Mari Samuelsen, flauti Carlosa Nakaija, klaviru Hayata Sumina, gitarama Hermanosa Gutierrezu i skladbama Maxa Richtera - koji su mi pravili društvo tijekom dugih sati pisanja.

*Infinite grazie alla positività, al coraggio e alla determinazione.*

## SAŽETAK

**Cilj istraživanja:** Ravnoteža crijevne mikrobiote od velike je važnosti za očuvanje zdravlja ljudi. Stanje kada je ravnoteža među komponentama mikrobiote narušena, naziva se disbioza. Godine 2019. u kineskom gradu Wuhan izbijala je bolest teškog akutnog respiratornog sindroma nazvana COVID-19, koja je uzrokovana novim koronavirusom SARS-CoV-2. Osim infekcije respiratornog sustava, SARS-CoV-2 također inficira gastrointestinalni trakt, gdje se intenzivno razmnožava. Cilj ovog rada je pružiti uvid u promjene sastava crijevne mikrobiote kod pacijenata s COVID-19 i kod osoba koje su se oporavile od COVID-19, kao i uvid u terapijske intervencije koje utječu na promjenu sastava crijevne mikrobiote u pacijenata s COVID-19.

**Metode:** Za izradu ovog preglednog rada pretraživana je dostupna znanstvena literatura na temu crijevne mikrobiote, COVID-19, analize crijevne mikrobiote u COVID-19 pacijenata te utjecaja probiotika i prehrane na crijevnju mikrobiotu kod COVID-19 pacijenata.

**Rezultati:** Sastav crijevne mikrobiote COVID-19 pacijenata te osoba koje su se oporavile od COVID-19 pokazuje značajnu disbiozu u usporedbi sa zdravim kontrolama. Dokazano je smanjenje mikrobne raznolikosti i mikrobnog bogatstva, kao i promjene u sastavu crijevne mikrobiote u obliku gubitka korisnih bakterija i povećanja brojnosti patogenih bakterija. Disbioza crijeva usko je povezana s gastrointestinalnim simptomima i težinom bolesti COVID-19.

**Zaključak:** Za utvrđivanje odražavaju li te promjene u sastavu crijevne mikrobiote uzrok ili posljedicu COVID-19, potrebno je provesti dodatna istraživanja. Terapijska intervencija na mikrobiotu putem probiotika, prebiotika i fekalne transplantacije je jedna od obećavajućih strategija za liječenje COVID-19 u budućnosti, ali neophodna su daljnja istraživanja.

## SUMMARY

**Objectives:** The intestinal microbiota balance is of great importance for maintaining human health. The condition when the balance in the microbial community is disturbed is called dysbiosis. In 2019, a severe acute respiratory syndrome disease called COVID-19 broke out in the Chinese city of Wuhan. It is an infectious disease caused by the new coronavirus SARS-CoV-2. In addition to infection of the respiratory system, SARS-CoV-2 also infects the gastrointestinal tract, where it multiplies intensively. The aim of this work is to provide insight into changes in the intestinal microbiota composition in patients with COVID-19 and in people who have recovered from COVID-19, as well as insight into therapeutic interventions that affect changes in the intestinal microbiota composition in patients with COVID-19.

**Methods:** The methods included a review of available scientific literature on the topic of intestinal microbiota, COVID-19, analysis of intestinal microbiota in COVID-19 patients, and the impact of probiotics and nutrition on intestinal microbiota in COVID-19 patients.

**Results:** The composition of the intestinal microbiota of COVID-19 patients and persons who have recovered from COVID-19 shows significant dysbiosis compared to healthy controls. A decrease in microbial diversity and richness, as well as changes in the composition of the intestinal microbiota in the form of a loss of beneficial bacteria and an increase in the number of pathogenic bacteria, have been proven. Gut dysbiosis is closely related to gastrointestinal symptoms and the severity of the disease of COVID-19.

**Conclusion:** To determine whether these changes in the composition of the intestinal microbiota reflect the cause or effect of COVID-19, it is necessary to perform additional research. Therapeutic intervention on the microbiota through probiotics, prebiotics and fecal

transplantation is one of the promising strategies for the treatment of COVID-19 in the future, but further research is necessary.



## SADRŽAJ

SAŽETAK.....	IV
SUMMARY .....	V
1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA .....	1
1.1. Mikrobiom i mikrobiota .....	1
1.2. Koji mikrobi nastanjuju crijeva ljudi?.....	3
1.2.1. Bakterije u debelom crijevu .....	3
1.2.2. Crijevna mikrobiota.....	11
1.2.3. Crijevna virobiota .....	11
1.2.4. Eukarioti.....	12
1.3. Dinamički model crijevne mikrobiote.....	12
1.4. Crijevna mikrobiota i zdravlje.....	12
1.5. Utjecaj ljudskog genoma na crijevnu mikrobiotu .....	15
1.6. Vanjski čimbenici koji utječu na sastav crijevne mikrobiote .....	16
1.7. Metaboliti crijevne mikrobiote.....	22
1.8. 2019. godina: od Wuhana do globalne pandemije .....	26
1.9. Epidemiologija COVID-19 .....	26
1.10. Mehanizam bolesti COVID-19 .....	27
1.11. Rizični faktori za razvoj bolesti .....	29
1.12. Potencijalni biomarkeri za COVID-19.....	31
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	33
3. MATERIJAL I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI .....	34
3.1. Disbioza crijevne mikrobiote u oboljelih od COVID-19 .....	34
3.2. Usporedba sastava crijevne mikrobiote oboljelih od COVID-19 i zdravih kontrola	36

3.3.	Usporedba sastava crijevne mikrobiote ljudi koji su oporavili od COVID-19 i zdravih ispitanika.....	46
3.4.	Usporedba sastava crijevne mikrobiote oboljelih od dugog COVID-19 i zdravih ispitanika.....	49
3.5.	Istraživanja s probioticima, prebioticima i fekalnom transplantacijom mikrobiote kod oboljelih od COVID-19 .....	50
3.6.	Interventna istraživanja mikronutricije kod oboljelih od COVID-19 i dugog COVID-19.....	55
3.7.	Opazajna analitička istraživanja o prehrani kod oboljelih od COVID-19 .....	56
4.	RASPRAVA .....	58
4.1.	Mehanizmi nastanka disbioze crijevne mikrobiote.....	58
4.2.	Nedostaci dosadašnjih istraživanja crijevne mikrobiote kod oboljelih od COVID-19.....	58
4.3.	Pogoršanje mentalnog zdravlja pacijenata kao posljedica COVID-19.....	59
4.4.	Utjecaj zatvaranja ( <i>lockdown-a</i> ) na sastav crijevne mikrobiote.....	60
4.5.	Kontaminacija hrane i vode virusom .....	60
4.6.	Preporučena prehrana kod oboljelih od COVID-19.....	61
4.7.	Potencijalni blagotvorni učinak mediteranske prehrane na oboljele od COVID-19 .....	64
5.	ZAKLJUČAK.....	65
6.	LITERATURA.....	67

# 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

## 1.1. Mikrobiom i mikrobiota

Mikrobiota ili mikroflora je skup mikroorganizama koji stalno nastanjuju pojedine dijelove ljudskog tijela: kožu, usta, vaginu, dišne puteve, a ponajviše probavni sustav. Mikrobiom ili metagenom je sveobuhvatnost gena zajednice mikroorganizama koji obitavaju u pojedinom sustavu ljudskog organizma. Mikrobiotu čine prvenstveno prokarioti, jednostanični organizmi bez stanične jezgre koji u citoplazmi sadrže nukleoid (jednu kromosomsku molekulu DNA) i plazmide (male nekromosomske kružne molekule DNA koje omogućavaju horizontalni prijenos genetskog materijala s jedne bakterije na drugu) (1,2). Zahvaljujući horizontalnom prijenosu gena i selekcijom poželjnih varijanata genetskih mutacija koje će omogućiti sojevima bakterija bolju prilagodbu uvjetima u crijevima, svaki domaćin sadrži vlastiti, jedinstveni skup sojeva bakterija u svojoj crijevnoj mikrobioti (3). Crijevna mikrobiota ima najveću gustoću bakterija i najveći apsolutni broj nepatogenih bakterija u usporedbi sa zajednicama mikroorganizama koji su nastanile ostala područja ljudskog tijela. Složeni ekosustav crijevnih mikrobiote najveće je gustoće u distalnom dijelu crijeva – u debelom crijevu. Najveći udio crijevnih mikrobiote čine bakterije, no u crijevima su također nastanjeni virusi, arheje, gljive i protozoe. Svi oni ulaze u međudjelovanje s epitelom crijeva domaćina, s imunim sustavom domaćina i s metabolitima domaćina. Svi nabrojani sudionici crijevnih mikrobiote stvaraju metabolite. Zahvaljujući tim metabolitima, različite skupine crijevnih mikrobiote ulaze u međudjelovanje jedne s drugima (1,2). U debelom se crijevu nalazi  $10^{11}$  mikrobnih stanica po gramu crijevnog sadržaja. Najgušća nastanjenost mikroorganizmima prisutna u debelom crijevu omogućena je sporijim tranzitom himusa u usporedbi s brzinom u tankom crijevu. Mikroorganizmi imaju više vremena fermentirati vlakna što podržava njihov rast. Zahvaljujući velikom volumenu debelog crijeva, ono je najveći rezervoar mikroorganizama u ljudskom

tijelu. Za razliku od tankog crijeva, zdravo debelo crijevo je obloženo debelim slojevima zaštitne sluzi (mukusa) koja razdvaja crijevnu mikrobiotu od epitelnih stanica stijenke debelog crijeva. Postoje vanjski i unutarnji sloj mukusa. Unutarnji sloj mukusa, bliži stijenci debelog crijeva, vrlo je gust i bez mikroorganizama. Vanjski je sloj mukusa manje gusti i sadrži manji broj mikroorganizma (4). Procjena je da se u prosječnom čovjeku tjelesne mase 70 kg nalazi oko  $3,8 \times 10^{13}$  bakterijskih stanica, s omjerom prokariotskih stanica naspram eukariotskih stanica domaćina oko 1,3 : 1 (5). Međutim, ova procjena ne uzima u obzir autohtone viruse u crijevnoj mikrobioti čija bi brojnost mogla biti jednaka onoj bakterija (6,7). Smatra se da ukupna mikrobna populacija u debelom crijevu broji više od  $10^{14}$  mikroorganizama (8). Procjenjuje se da je ukupna masa crijevne mikrobiote između 0,2 kg i 1 kg, odnosno 1 % do 3 % tjelesne mase domaćina (9–12).

Procjenjuje se da su crijeva kolonizirana s preko 1000 različitih vrsta bakterija koji sadrže između 5 milijuna, 8 milijuna i 22 milijuna različitih gena (12–14). Genetski potencijal crijevne mikrobiote odrasle osobe je 150 puta veći od genetskog potencijala njegovih ljudskih (eukariotskih) stanica.

Sastav crijevne mikrobiote ne miruje, tj. nije konstantan kroz vrijeme. On se često mijenja, prije svega samom dinamikom hranjenja. Opskrba energijom debelog crijeva nije kontinuirana već ima svoj *puls*. Ovisno o frekvenciji jedenja, izvori energije za bakterije dolaze u bolusima. Dolazak fermentabilnih vlakana u proksimalni dio debelog crijeva potiče rast pojedinih bakterijskih vrsta i reakcije fermentacije, što za posljedicu ima pad pH vrijednosti u kolonu. Nakon prolaska bolusa, rast bakterija i sam proces fermentacije se usporava, što za posljedicu ima ponovni porast pH vrijednosti u kolonu. Mikrobna zajednica je u ciklusu konstantnih promjena (3,15).

## 1.2. Koji mikrobi nastanjuju crijeva ljudi?

### 1.2.1. Bakterije u debelom crijevu

Bakterije su najbrojniji članovi mikrobne zajednice zdravog debelog crijeva. Gotovo sve bakterije pronađene u debelom crijevu spadaju u pet do šest koljena (4). Prema ICSP i NCBI iz 2021., *Bacillota* (ranije *Firmicutes*) (u koje spadaju rodovi *Clostridium*, *Enterococcus*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Ruminococcus* i *Lactobacillus*) i *Bacteroidota* (ranije *Bacteroidetes*) (u koje spadaju rodovi *Bacteroides*, *Alistipes*, *Parabacteroides* i *Prevotella*) dva su koljena (lat. *phyla*) koje sačinjavaju 90 % crijevne mikrobiote odraslih ljudi (16). Crijevna mikrobiota dojenčadi pretežito je sastavljena od koljena *Pseudomonadota* (ranije *Proteobacteria*) i *Actinomycetota* (ranije *Actinobacteria*). U crijevnoj mikrobioti djece značajno prednjači koljeno *Actinomycetota*, posebice rod *Bifidobacterium* (17)

*Pseudomonadota* je koljeno Gram negativnih bakterija, među kojima i mnogih patogena: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *Shigella dysenteriae*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*. Stanična stijenka ovih bakterija je obavijena slojem lipopolisaharida (LPS). Imunosni sustav ljudi brzo i snažno reagira na antigen LPS-a. *E. coli* je najbolje istražena bakterija. Kao i mnoge druge proteobakterije, *E. coli* je tolerantna na kisik, iako je sposobna rasti i u njegovoj odsutnosti, što je čini fakultativnim anaerobom. Upravo je ova njezina značajka pomogla ranoj izolaciji *E. coli* 1886. godine od strane njemačkog pedijatra Theodora Eschericha iz gnoja na zavojima rana. Istraživanja na *E. coli* su od neprocjenjive važnosti za razvoj biokemije i genetike. Unatoč opravdanoj reputaciji *E. coli* kao patogenog uzročnika dijareje, mnogim sojevima *E. coli* koji nastanjuju crijeva nedostaju geni za virulenciju (karakteristični za patogene) pa ne štete stanicama svog domaćina, što ih čini komensalima. No, granica između patogena i komensala nije uvijek jasna. Smatra se da tek nedavno prepoznati patogen - adherentno-invazivna *E. coli* doprinosi etiopatologiji Crohnove bolesti u uvjetima disbioze kada je narušen integritet sluznice crijeva, ali taj isti učinak nije

dokazan kod zdravih ljudi u eubiozi kada je integritet crijeva očuvan. Također, određeni sojevi *E. coli* koji ne uzrokuju dijareju te su do sada smatrani komenzalima, proizvode genotoksin kolibaktin uključen u etiopatologiju kolorektalnog karcinoma. Neki sojevi bakterija koje nastanjuju ljudski organizam mogu biti istovremeno i patogeni i komensali ili čak djelovati blagotvorno, ovisno o okolnostima i samoj osobi (4). Tome svjedoči još jedna proteobakterija - *Helicobacter pylori* – patogena bakterija želučane mikrobiote. *H. pylori* može nastaniti sluznicu crijeva zahvaljujući metabolizmu uree u amonijak, što joj omogućuje preživljenje u uvjetima vrlo niske pH vrijednosti kakva je prisutna u želucu. Ovaj patogen uzrokuje ulkus i gastritis te povećava rizik za razvoj raka želuca. Međutim smatra se da je *H. pylori* bitan u regulaciji imunskog odgovora. Postoje naznake da bi osobe bez *H. pylori* mogle imati veći rizik za razvoj astme, alergija i celijakije od ljudi čija želučana mikrobiota sadrži *H. pylori*. Istražuju se također učinci komensala *Sutterella wadsworthensis* i *Sutterella parvirubra* na imunitet ljudi (18). Koljeno *Pseudomonadota* uključuje također sulfat-reducirajuće bakterije *Desulfovibrio piger* i *Bilophila wadsworthii*. Rodovi *Desulfovibrio* i *Bilophila* reduciraju sulfate i sulfite do vodikovog sulfida ( $H_2S$ ) koji toksično djeluje na epitelne stanice crijeva. Udio ovih bakterija je povećan kod ljudi čija je prehrana bogata proteinima i mastima životinjskog podrijetla. Proteobakterije čine mali udio u crijevnoj mikrobioti zdravih ljudi (1 % - 5 %), ali se taj postotak značajno povećava u stanju bolesti. Infekcija patogenim sojevima može promijeniti okolinu kako bi ona pogodovala patogenu (4).

*Bacteroidota* je jedno od dva najbrojnija koljena bakterija koje nastanjuju zdravo debelo crijevo. Čine 10 % - 40 % ukupnih sekvenci gena bakterija detektiranih u fecesu ljudi. Obligatni su anaerobi, premda su pojedini rodovi manje osjetljivi na kisik od drugih (primjerice *Bacteroides* spp.). Poput proteobakterija, *Bacteroidota* su također Gram negativne bakterije obavijene slojem LPS-a, iako su njihovi LPS manje imunogeni u usporedbi s onima patogenih proteobakterija. *Bacteroidota* imaju veliki genom, veći od drugih bakterija crijevne mikrobiote.

Mnogobrojne genske sekvence kod pojedinih vrsta bakterija su uključene u metabolizam ugljikohidrata, bilo podrijetlom iz hrane, ili iz samog domaćina. Dva glavna roda ovog koljena jesu *Bacteroides* i *Prevotella*. Ova bi dva roda mogla biti u obrnuto proporcionalnom odnosu. Naime, kod odraslih ljudi s velikim udjelom bakterija *Bacteroides* u debelom crijevu, udio bakterija *Prevotella* je mali, i obrnuto. Još nije razjašnjen razlog. Također nije razjašnjeno je li omjer ovih bakterija koristan ili štetan za zdravlje. Najvjerojatnije učinak na zdravlje ovisi o vrstama i sojevima bakterija, više nego o samom rodu bakterija. Bakterije roda *Bacteroides* se smatraju bezopasnim komensalima, ali vrsta *Bacteroides fragilis* to zasigurno nije, jer uključuje patogene sojeve. Pojedine vrste roda *Bacteroides* jesu oportunistički patogeni jer doprinose infekcijama koje uzrokuju drugi patogeni, ili pak same uzrokuju infekciju u uvjetima oslabljenog imuniteta domaćina. Rod *Bacteroides* je glavni u fermentaciji proteina, peptida i aminokiselina. Zato može proizvoditi toksične metabolite koje doprinose razvoju kolorektalnog karcinoma. Kao i u slučaju proteobakterija, razlika između patogena i bezopasnih komensala nije jasna ni precizna (4).

*Bacillota* je koljeno karakteristično po velikoj raznolikosti bakterija koje mu pripadaju po filogenetici. *Bacillota* je jedno od dva najbrojnija koljena bakterija koje nastanjuju zdravo debelo crijevo. Čine 20 % - 70 % ukupnih sekvenci gena bakterija detektiranih u fecesu ljudi. Većina bakterija ovog koljena su obligatni anaerobi. Glavnina vrsta i sojeva bakterija iz koljena *Bacillota* koji nastanjuju crijeva nisu štetna po zdravlje, štoviše mnogi sojevi se smatraju blagotvornima za zdravlje ljudi. Tri grupe ovog koljena proizvode butirat kao glavni krajnji metabolit fermentacije ugljikohidrata. Butirat je neophodan izvor energije za kolonocite, ima ulogu suzbijanja upale te prevencije razvoja kolorektalnog karcinoma i ulceroznog kolitisa.

*Faecalibacterium prausnitzii* se do sada smatrao jednom vrstom, no vrlo vjerojatno je riječ o više različitih vrsta koje se još moraju identificirati i klasificirati. *F. prausnitzii* je jedna od tri najbrojnije vrste bakterija detektirane u fecesu zdravih ljudi, a ujedno i jedan od tri najvažnija

proizvođača butirata u crijevu. Broj *F. prausnitzii* snižen je kod ljudi s Crohnovom bolesti. *F. prausnitzii* ima ograničenu sposobnost iskorištavanja ugljikohidrata iz prehrane za rast. Svojevrсна je devijacija unutar koljena *Bacillota* jer je njegova stanična stijenka sličnija stijenci Gram negativnih bakterija nego Gram pozitivnih. *Eubacterium rectale* i *Roseburia* spp. imaju primarnu ulogu u fermentaciji neprobavljenih ugljikohidrata iz hrane dospjelih u debelo crijevo. Krajnji produkt ove fermentacije je butirat. Provođenje hipokalorijske prehrane s niskim udjelom ugljikohidrata popraćeno je smanjenjem udjela butirata u fecesu, paralelno sa smanjenjem brojnosti bakterija *Roseburia* spp i *E. rectale*. Za razliku, rast *F. prausnitzii* nije toliko osjetljiv na nedostatak ugljikohidrata u prehrani te količina ostaje gotovo stabilna unatoč promjeni u prehrani. *Roseburia* spp. i *E. rectale* rijetki su pripadnici koljena *Bacillota* s flagelama (bičem) koje tim bakterijama omogućuju pokretljivost. Ovu karakteristiku dijele s Gram negativnim patogenima poput *E. coli*. Imunosni sustav ljudi može prepoznati protein flagelin koji gradi flagelu patogena. No još uvijek nije jasan utjecaj flagelina u biču komensala na imunosni sustav čovjeka (4). *Anaerobutyricum hallii* i *Anaerostipes* spp. metaboliziraju laktat i acetat do butirata. Smatra se da ove bakterije imaju vitalnu ulogu u održavanju sastava mikrobne zajednice debelog crijeva sprječavajući nakupljanje laktata u crijevima i snižavanje pH vrijednosti uzrokovano metabolizmom bakterija mliječne kiseline, odnosno *A. hallii* i *Anaerostipes* spp. djeluju poput pufera. Mliječna kiselina ima nižu pKa vrijednost od ostalih krajnjih metabolita fermentacije ugljikohidrata, dakle kiselija je. Nakupljanje laktata uzrokovalo bi snižavanja pH vrijednosti u debelom crijevu do razine inhibicije rasta normalno dominantnih vrsta bakterija unutar mikrobne zajednice. Ti bi uvjeti pogodovali rastu prvenstveno bakterija mliječne kiseline što bi rezultiralo dodatnim povećanjem količine proizvedenog laktata. Poput začaranog kruga. Postoje dve stereoizomera laktata. U eukariotskim se stanicama proizvodi isključivo L laktat u uvjetima nedostatne količine kisika. Prokariotske stanice stvaraju oba stereoizomera. Stoga je sav D laktat u tijelu čovjeka produkt



metabolizma mikroorganizama. D laktat je neurotoksičan za sisavce. Optimalni raspon pH vrijednosti za metaboličke reakcije *A. hallii* i *Anaerostipes* spp je 6 do 8. Sposobnost ovih bakterija da metaboliziraju laktat u butirat značajno pada pri pH vrijednosti blizu 5. D laktat acidoza uzrokovana nekontroliranom fermentacijom od strane bakterija mliječne kiseline karakteristična je za sindrom kratkog crijeva koji može nastupiti nakon kirurške resekcije crijeva. Ova acidoza također zvana D laktat encefalopatija kod ljudi sa sindromom kratkog crijeva može biti fatalna. Nužan korak dijetoterapije je strogo doziranje fermentirajućih vlakana u prehrani pacijenata (19).

*Ruminococcus* spp. i *Blautia* spp. ne proizvode butirat. *Blautia* spada u porodicu *Lachnospiraceae*, dok *Ruminococcus* spada zajedno s *F. prausnitzii* u porodicu *Ruminococcaceae*. Pojedine vrste roda *Blautia* poput *B. hydrogenotrophica* bakterije proizvode acetat iz ugljikovog dioksida i vodika (ili soli mravlje kiseline). *B. gnavus* pak može koristiti mucin domaćina kao izvor energije za rast ove vrste bakterija. Rod *Ruminococcus* raspolaže složenim sustavom enzima koji mu omogućava dobivanje energije iz prehrambenih vlakana. *R. bromii* učinkovito katabolizira otporni škrob, uključujući i otporni škrob u sirovom obliku. *R. bicirculans* katabolizira  $\beta$ -glukan dok *R. champanellensis* katabolizira celulozu. Dokazana je sposobnost sporulacije kod *R. bromii*. Mnoge anaerobne bakterije koljena *Bacillota* izolirane u crijevima ljudi sadrže gene za sporulaciju. Stvaranje spora omogućuje striktnim anaerobima transmisiju iz jednog domaćina u drugi. Bakterije mliječne kiseline jesu Gram pozitivne mikroaerofilne bakterije i fakultativni anaerobi. Jedni od predstavnika ove skupine jesu rodovi *Lactobacillus*, *Streptococcus* i *Enterococcus*. Upravo zbog spomenute mikroaerofilne prirode, ove bakterije u većoj mjeri nastanjuju tanko crijevo nego debelo crijevo gdje čine manji udio mikrobne zajednice. Naziv skupine potječe od glavnog krajnjeg metabolita - mliječne kiseline. Neke bakterije proizvode također i acetat. Sojevi i vrste roda

*Lactobacillus* jesu najzastupljenije bakterije na tržištu dodataka prehrani i lijekova s probiotičkim kulturama (4).

Rod *Lactobacillus* je jedan od najvažnijih rodova crijevne mikrobiote. Njegova prisutnost osigurava zaštitu od invazije patogena, kao i stimulaciju imunskog sustava i zaštitu crijevne flore, često kroz sposobnost interakcije sa sluzi i komponentama izvanstaničnog matriksa. Površinski proteini laktobacila prijanjaju na epitelnim stanicama domaćina i na proteinima ekstracelularnog matriksa, moduliraju imunski odgovor domaćina i koče infekciju patogenim bakterijama. Ove uloge su za soj specifične i blagotvorne za domaćina (20). Zbog heterogenosti roda *Lactobacillus*, Zheng i suradnici su revidirali njegovu taksonomiju 2020. godine. Po novoj je taksonomiji podijeljen na 25 rodova. U ovom je radu korištena stara taksonomija roda *Lactobacillus*.

*Clostridium* je rod koji uključuje patogene sojeve i vrste. *Clostridium* spp. nisu jedini patogeni koljena *Bacillota*. Patogeni su također i određeni sojevi i vrste *Streptococcus* i *Enterococcus* (gore spomenute bakterije mliječne kiseline). Premda je *Clostridioides* (ranije *Clostridium*) *difficile* bakterija crijevne mikrobiote, ona može uzrokovati potencijalno letalnu infekciju - dijareju uzrokovanu antibioticima u hospitaliziranih bolesnika pod terapijom antibioticima. Crijevna mikrobiota u eubiozi sprječava infekciju *C. difficile*. Disbioza crijevne mikrobiote uzrokovana antibioticima omogućuje infekciju *C. difficile* koja podržava stanje tvrdokorne disbioze i vrlo otežan povratak u stanje eubioze kakvo je bilo prije terapije antibioticima. Poput mnogih vrsta roda *Clostridium*, *C. difficile* posjeduje mogućnost sporulacije. Otporne spore dodatno otežavaju uklanjanje ove bakterije iz domaćina. Ipak valja napomenuti su mnoge vrste i sojevi *Clostridium* komensali. Nisu sve klostridije štetne za domaćina, tj. „loše bakterije“, kao što nisu sve bakterije mliječne kiseline „dobre bakterije“ (4).

*Actinomycetota* je koljeno Gram pozitivnih bakterija. Glavni predstavnici ovog koljena u ljudskom crijevu jesu rodovi *Bifidobacterium* i *Collinsella*. Bifidobakterije fermentiraju šećere prvenstveno do laktata i acetata. Određeni sojevi bifidobakterija su česti sastojci dodataka prehrani i lijekova s probiotičkim kulturama. Stari naziv za *Bifidobacterium* spp. je bio *Lactobacillus bifidus*. Najrasprostranjenije bakterije koljena *Actinomycetota* detektirane u fecesu odraslih ljudi jesu *B. adolescentis* i *B. longum*. Rod *Bifidobacterium* čini najveći udio mikrobne zajednice u crijevima dojenčadi, posebno dojenčadi dojene isključivo majčinim mlijekom. Majčino mlijeko sadrži oligosaharide (engl. *human milk oligosaccharides*, HMO) – supstrate za rast bifidobakterija dojenčadi. HMO su stoga svojevrsi prebiotici za bifidobakterije. Nadalje, bifidobakterije kao bakterije mliječne kiseline snizuju pH vrijednost crijeva dojenčadi, čime otežavaju kolonizaciju i razmnožavanje drugih bakterija. Rod *Collinsella* je pak vrlo slabo istražen. Dosadašnja istraživanja upućuju na povezanost proupalnih svojstava stanične stijenke vrste *Collinsella aerofaciens* i razvoja reumatoidnog artritisa (4).

*Akkermansia muciniphila* je do sada jedini izolirani predstavnik od malog značenja koljena *Verrucomicrobiota* (ranije *Verrucomicrobia*) u ljudskom crijevu. Veći udio bakterije *A. muciniphila* u uzorcima fecesa detektiran je kod ljudi nakon gubitka tjelesne mase i poboljšanja metaboličkog zdravlja. S druge strane, detektirana je povećana brojnost ove bakterije kod ljudi oboljelih od kolorektalnog karcinoma. *A. muciniphila* je povezana sa sporijom peristaltikom crijeva i nižim vrijednostima Bristolske ljestvice za procjenu stolice. Zahvaljujući metabolizmu mucina, odnosno razgradnji mukusa i korištenju istoga kao energetskog supstrata, *A. muciniphila* će činiti veći udio u mikrobioti debelog crijeva kada su koncentracije vlakana niže. Niža koncentracija vlakana u debelom crijevu može biti posljedica učinkovitije fermentacije prilikom sporog prolaza hrane kroz crijevo ili zbog samog ograničenog unosa vlakana (4).

Predstavnik domene *Archaea* u ljudskom debelom crijevu jest metanogena vrsta *Methanobrevibacter smithii* koja proizvodi metan iz vodika i ugljikovog dioksida (ili formijata). Manje rasprostranjena vrsta *Methanosphaera stadtmanae* pretvara metan iz metanola. Svega 50 % odraslih ljudi sadrže metanogene vrste i stvaraju značajne količine metana. Ne-metanogena crijevna mikrobiota ostalih 50 % odraslih ljudi sadrže beznačajan broj metanogenih arheja. U potonjoj crijevnoj mikrobioti, acetogene bakterije koriste produkte fermentacije: vodik, ugljikov dioksid i formijat za sintezu acetata. Sintaza metana ne doprinosi značajno energetski, zbog čega izostaje brzi rast kod metanogenih vrsta. Ovim arhejama odgovara sporiji tranzit hrane u crijevima. Postoje naznake da metanogene arheje mogu djelovati na peristaltiku crijeva kako bi usporile prolazak hrane i time stvarale povoljne uvjete za njihov rast (4).

Koljeno *Fusobacteriota* (ranije *Fusobacteria*) je slabo istraženo u usporedbi s drugim koljenima. Uključuje rodove *Fusobacterium*, *Leptotrichia* i *Sneathia*. To su Gram - negativni nesporogeni anaerobi oblika suženog štapića. Neke vrste imaju jedinstvene metaboličke aktivnosti, poput *Psychrilyobacter atlanticus*, morske bakterije koja razgrađuje nitraminske eksplozive (21). Najpoznatiji predstavnik *Fusobacteriota* u crijevnoj mikrobioti je *Fusobacterium nucleatum*, bakterija koja može stvarati genetske i epigenetske lezije te pospješiti proliferaciju stanica raka odnosno tumorigenezu kolorektalnog karcinoma. Razina ovog oportunističkog patogena je povećana u fecesu pacijenta s kolorektalnim karcinomom. Stoga se *F. nucleatum* smatra čimbenikom rizika i potencijalnim biomarkerom za rak debelog crijeva (22).

### 1.2.2. Crijevna mikobiota

Kvasci u crijevima čine svega 0,1 % ukupne mikrobiote. Njihov genom u crijevima je vrlo malen. Međutim, stanica gljive je 100 puta veća od prosječne bakterijske stanice, što ukupnu masu gljiva u crijevima ne čini zanemarivim. Najbrojniji predstavnik crijevne mikrobiote je kvasac *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* i *C. parapsilosis*). Također su prisutni kvasac *Saccharomyces* i plijesan *Cladosporium*. Već su tjedan dana nakon poroda u rektumu novorođenčadi izolirani sojevi *C. albicans* prisutni u vagini majke (23). Vegetarijanska prehrana je povezana s povećanjem roda *Candida*, dok je prehrana bogata hranom životinjskog podrijetla povezana s povećanjem roda plijesni *Penicilium* (2).

### 1.2.3. Crijevna virobiota

Dosadašnje znanje o zajednici virusa bakteriofaga koji nastanjuju crijevo je oskudno. Identifikacija virusa je otežana zbog nedostatka odgovarajućeg markera za viruse (poput gena 16S rRNA za bakterije) i zbog same strukture genoma virusa. Većina dosad identificiranih gena kodira za proteine svojstvene raznim porodicama virusa što onemogućuje razlikovanje virusa na razini vrste. Za razliku od virobioma, *životni* ciklus crijevnih bakteriofaga je više istražen i poznat. Bakteriofagi koriste stanice bakterija kako bi se razmnožavali, odnosno *parazitiraju* na bakterijama. Bakteriofag ubacuje svoj genetski materijal u bakteriju, koji se potom ugrađuje u bakterijsku DNA potičući sintezu novih bakteriofaga. Ciklus završava lizom bakterijske stanice iz koje se oslobađa stotinjak novih virusnih čestica, spremnih za infekciju novih bakterija. Najbrojniji predstavnici crijevne virobiote jesu dvolančani DNA virusi iz reda *Caudovirales* i jednolančani DNA virusi iz porodice *Microviridae*. Također su u crijevima nađeni RNA virusi, najvjerojatnije uneseni putem hrane. Za sada nije jasna uloga crijevne virobiote na zdravlje pojedinca (24).

#### 1.2.4. Eukarioti

Ljudsko crijevo može sadržavati raznovrsne eukariotske mikroorganizme. Protisti uključuju patogene kao što su *Entamoeba* i *Cryptosporidium* koji mogu uzrokovati proljev. Kvasci u crijevima također uključuju patogenu vrstu *Candida albicans*, iako su mnogi drugi kvasci vjerojatno bezopasni komensali ili prolazne prirode u crijevima (4).

#### 1.3. Dinamički model crijevne mikrobiote

U crijevnoj mikrobioti prednjači amenzalizam s međusobnom kompeticijom bakterija na razini koljena. Negativne interakcije unutar crijevne mikrobiote mogu biti posljedica ograničenog i fiksnog broja crijevnih bakterija. Naime, budući da je broj bakterija u pravilu stalan, povećanje brojnosti jedne vrste obično označava pad u brojnosti druge vrste. Dokazan je negativan učinak koljena *Bacillota* na brojnost koljena *Bacteroidota*, ali i negativan učinak koljena *Bacteroidota* na brojnost koljena *Bacillota*. *Actinomycetota* ima negativan učinak na brojnosti koljena *Bacillota*. Taj negativni učinak je znatno jači kod ljudi normalne tjelesne mase, nego kod ljudi prekomjerne tjelesne mase i pretilih. U ljudi normalne tjelesne mase, koljeno *Actinomycetota* ima jaki pozitivan učinak na brojnost koljena *Bacteroidota*, dok u ljudi prekomjerne tjelesne mase i pretilih ima slabi negativan učinak na brojnost koljena *Bacteroidota* (25).

#### 1.4. Crijevna mikrobiota i zdravlje

Svaka zdrava crijevna mikrobiota odraslog čovjeka sadrži jednu ključnu zajednicu bakterija koja unatoč vanjskim (okolišnim) čimbenicima, permanentno kolonizira debelo crijevo. Vanjski čimbenici mogu utjecati na brojnost bakterija koje čine tu permanentno naseljenu zajednicu, ali neće utjecati na pojavnost ili potpunu odsutnost pojedinih bakterijski vrsta (26).

Ravnoteža crijevne mikrobiote od velike je važnosti za očuvanje zdravlja ljudi. Stanje kada je ravnoteža među komponentama mikrobiote narušena, naziva se disbioza. Disbioza je povezana s pojavom pojedinih bolesti (metaboličke bolesti, autoimune bolesti, alergijske bolesti, rak debelog crijeva i bakterijske infekcije) ili s pogoršanjem kliničke slike pacijenta (2). Crijevna mikrobiota utječe na metabolizam i fiziologiju domaćina, utječe na razvoj imunskog sustava, na postoperativni oporavak, na uspješnost transplantacije organa, na regulaciju funkcije središnjeg živčanog sustava, na održavanje kardiovaskularnog zdravlja i razvoj bolesti, na ljudsko ponašanje i na osobnost (26). Ovisno o sastavu mikrobne zajednice, crijevni mikrobiom može djelovati i kao onkogen i kao tumor supresor. LPS u staničnoj stijenci gram-negativnih bakterija mogu aktivirati *Toll-like* receptore na kolonocitima, što stimulira imunski odgovor posredovan T limfocitima protiv stanica raka. S druge strane, određeni bakterijski metaboliti potiču razgradnju molekula koje povezuju epitelne stanice i potiču proliferaciju epitelnih stanica koja može prerasti u tumor. *Lactobacillus rhamnosus* pokazuje više antikancerogenih djelovanja, uključujući inhibiciju proliferacije stanica i metastaza tumora te stimulaciju imunskog odgovora (27).

Bogatstvo sastava crijevne mikrobiote mjeri broj različitih vrsta mikroorganizama u crijevima. Bogatija crijevna mikrobiota ima široki raspon različitih vrsta mikroorganizama, dok neraznolika crijevna mikrobiota sadrži manji broj različitih vrsta i u njoj prevladava nekoliko dominantnih vrsta. Raznolikost se kvantificira kroz broj različitih vrsta i obilje svake pojedine vrste u crijevima. Raznolikiji sastav crijevne mikrobiote ukazuje na veći broj više različitih vrsta mikroorganizama ravnomjerno raspodijeljenih u debelom crijevu. Veća raznolikost crijevne mikrobiote u odraslih ljudi povezana je s boljim zdravljem. Ipak, raznolika crijevna mikrobiota nije jednoznačan pokazatelj dobrog zdravlja, posebno ne u slučaju dojenčadi i male djece. Naime, mikrobiota dojenčadi dojene majčinim mlijekom je manje raznolika od mikrobiote dojenčadi dojene mliječnim formulama, a prva se smatra zdravijom od potonje (3).

Crijevna mikrobiota odraslih ljudi složenija je od crijevne mikrobiote djece u vidu brojnosti bakterija i raznovrsnosti bakterija. Međutim, starenjem sastav crijevne mikrobiote ponovno postaje manje raznolik (2).

Ljudski je organizam evoluirao zajedno s rezidentnom crijevnom mikrobiotom do točke u kojoj su postali međusobno ovisni. Domaćin ovisi o mikrobnj zajednici kako bi održalo zdravlje tijekom trajanja života. Unatoč mnogobrojnim radovima zadnja dva desetljeća u području biomedicine na temu crijevne mikrobiote, ne postoji još uvijek jasan odgovor na pitanje koji je sastav zdrave crijevne mikrobiote. Podrazumijeva se da u zdravoj crijevnoj mikrobioti dominiraju komenzalne i simbiotske bakterije. Također se podrazumijeva da su iz zdrave crijevne mikrobiote odsutni patogeni virusi, bakterije i eukariotski mikroorganizmi. No i potencijalno patogena bakterija, kao u slučaju *Bacteroides fragilis*, može djelovati protuupalno, odnosno blagotvorno za zdravlje. Kao što nisu niti sve metaboličke aktivnosti komenzalnih bakterija blagotvorne za zdravlje domaćina. Neki komenzali proizvode toksične metabolite, prouupalne metabolite i kancerogene. Neki mikroorganizmi imaju potencijal djelovati i pozitivno i negativno na zdravlje domaćina. Istraživanja teku u smjeru određivanja razlika u aktivnosti između raznih sojeva unutar iste vrste bakterija koji pokazuju različite metaboličke funkcije i posljedično različiti učinak na zdravlje domaćina. Već se napušta poimanje da se zdravlje crijevne mikrobiote može definirati samo kvantificiranjem broja i identificiranjem vrsta i sojeva mikroorganizama u njoj prisutnih. Sve su jači argumenti u korist istraživanja metaboličkih aktivnosti crijevne mikrobiote kao jednog sustava i praćenje ravnoteže tog sustava. Umjesto dosadašnjeg naglaska na pojedine vrste bakterija, detektirale bi se i kvantificirale mikrobne funkcionalne grupe poput: skupine bakterija koje fermentiraju vlakna, skupine proizvođača butirata, skupine proizvođača vitamina, skupine protuupalnih bakterija i skupine bakterija koje metaboliziraju laktat; uz detekciju i kvantifikaciju mikrobnih metabolita



s ulogom biomarkera (28). Zdravim mikrobiomom se smatra mikrobiom otporan na promjene i koji se iz izmijenjenog stanja brzo može vratiti u svoje izvorno stanje (27).

Provedena su istraživanja kako bi se utvrdilo je li sastav mikrobiote crijeva po rođenju povezan s kasnijim razvojem debljine do 7. godine života. Crijevna mikrobiota po rođenju bila je bogatija bakterijom *Staphylococcus aureus* kod finske djece koja su u 7. godini života imala veću tjelesnu masu, dok je crijevna mikrobiota po rođenju bila bogatija bifidobakterijama kod djece koja su u 7. godini života imala zdravu tjelesnu masu. Pretpostavka je da promjene u crijevnoj mikrobioti koje su prethodile debljini, mogu jednim dijelom biti uzrok te bolesti (29).

### **1.5. Utjecaj ljudskog genoma na crijevnu mikrobiotu**

Polimorfizam određenih gena, primjerice unutar genoma stanica imunskog sustava, može na više načina utjecati na crijevni mikrobiom. Utjecaj se vidi i na vrstu i količinu sintetiziranih probavnih enzima uključenih u regulaciju koji će ostaci probavljene hrane dospjeti u debelo crijevo; kao i na vrste ugljikohidrata prisutnih u mukusu na površini crijevnih epitelih stanica što točno određuje koje bakterije će se vezati za glikozilirane proteine mukusa. U širem smislu, geni određuju fiziologiju i anatomiju probavnog sustava, a njegova peristaltika i pH vrijednost u crijevima određuju vrste bakterija kojima će dani uvjeti odgovarati za rast. Geni dijelom određuju i prehrambene preferencije uključujući i preferenciju prema unosu prehrambenih vlakana. Cilj je istražiti povezanost između određenih polimorfizma gena i prisutnosti pojedine skupine mikroorganizma u mikrobiomu (30). Sastav crijevne mikrobiote oblikuje više čimbenika, no doprinos genetike domaćina na sastav ostaje jedva primjetan. Sama činjenica da ljudi koji nisu u krvnom srodstvu, a žive u istom domaćinstvu imaju slični sastav crijevne mikrobiote ide u prilog tom zaključku (26). Ipak, identificirane su bakterijske taksone na čiju brojnost najviše utječe genetika domaćina. Prisutnost i brojnost porodice *Christensenellaceae*

u crijevima je uglavnom nasljedan. On je danas najznačajniji nasljedni bakterijski takson. *Christensenellaceae* su povećane kod pojedinaca s niskim indeksom tjelesne mase (31). U prvim mjesecima života, genetika domaćina ima značajnu ulogu u moduliranju sastava crijevne mikrobiote dojenčadi, osim u slučaju antibiotske intervencije. Ali, do 12. mjeseca života vanjski čimbenici poprimaju najveću ulogu u modulaciji sastava crijevne mikrobiote u zdrave dojenčadi (32). Ljudski geni mogu utjecati na zdravlje izravno ili neizravno putem moduliranja sastava crijevne mikrobiote. Studije o nasljednosti bakterijskih taksona identificirale su taksone čija je brojnost u crijevima jednim dijelom genetski predodređena. Uočene su povezanosti između bakterija, bakterijskih gena i ljudskih gena. Neophodno je u budućim istraživanjima kvantificirati interakcije između genotipa, okoliša i mikrobiote kako bi se predvidio rizik za razvoj pojedinih bolesti (33).

### **1.6. Vanjski čimbenici koji utječu na sastav crijevne mikrobiote**

Način poroda. Uvriježeno je mišljenje da kolonizacija crijeva bakterijama započinje rođenjem. Međutim, danas je dokazana prisutnost bakterija već u amniotskoj tekućini i u posteljici, što može biti izvorištem bakterija za razvoj crijevne mikrobiote u novorođenčadi. Mikrobiota se prenosi na dojenčad iz vagine i fecesa njihovih majki (26). Novorođenčad rođena vaginalnim porodom razvija crijevnu mikrobiotu sličnu majčinoj vaginalnoj i perinealnoj mikrobioti. Oko 50 % njihove crijevne mikrobiote je sastavljeno od *Lactobacilla*. Upravo se laktobacilima pripisuje zaštitna uloga od zaraze patogenim bakterijama. Osim laktobacila, značajno su zastupljeni rodovi *Prevotella* i *Sneathia*. Novorođenčad rođena carskim rezom razvija crijevnu mikrobiotu sličnu mikrobioti majčine kože, uključujući i mikrobiotu prisutnu u kirurškoj sobi gdje se odvija carski rez (34). U crijevnoj mikrobioti dojenčadi rođene carskim rezom uočen je manji broj rodova *Bifidobacterium* i *Bacteroides*, manji broj striktnih anaeroba, smanjena raznolikost crijevne mikrobiote, a veći broj vrste *C. difficile* te vremenski odgođenu

kolonizaciju bakterija iz koljena *Bacteroidota* u usporedbi s novorođenčadi rođenom vaginalno (35–37). Prednjače rodovi *Staphylococcus*, *Corynebacterium* i *Propionibacterium*. Podložniji su zarazi bakterijom *Staphylococcus aureus* koja je pronađena u 64 – 82 % djece rođene carskim rezom i bakterijom *C. difficile*. Razlike u sastavu crijevne mikrobiote kod vaginalnog poroda i kod carskog reza nestaju najkasnije unutar prve godine života (34). Gestacijska dob također utječe na sastav crijevne mikrobiote. Nedonoščad imaju manje raznoliku crijevnu mikrobiotu zbog duže hospitalizacije i terapije antibioticima (38).

Dojenje. Mlijeko ima glavnu hranjivu ulogu i glavnu ulogu prijenosa inokuluma probiotičkih bakterija za rast i razvoj crijevne mikrobiote u prvoj fazi života. U majčinom su mlijeku prisutni rodovi *Streptococcus* i *Staphylococcus*, *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* - rani kolonizatori debelog crijeva dojenčadi. Štoviše, u uzorcima fecesa dojenčadi su nađeni identični sojevi bakterija *Lactobacillus*, *Staphylococcus* i *Bifidobacterium* kao u majčinom mlijeku. Smatra se kako bakterije iz crijeva dolaze do mliječnih žlijezda u dojci. Majčino mlijeko također sadrži bioaktivne molekule s prebiotičkim djelovanjem koji se nazivaju oligosaharidima ljudskog mlijeka. Oni imaju važnu ulogu određivanja koje vrste bakterija će nastaniti debelo crijevo dojenčadi. Rod *Bifidobacterium* je najzastupljeniji rod kod dojenčadi, neovisno je li dojeno majčinim mlijekom ili hranjeno mliječnim formulama. Ipak, postoje značajne razlike u sastavu crijevne mikrobiote ovisno o vrsti mlijeka. Dojenčad hranjena mliječnim formulama razvija crijevnu mikrobiotu s većim brojem fakultativnim anaeroba, većim brojem bakterija iz roda *Bacteroides* i razreda *Clostridia*. Dojenčad hranjena majčinim mlijekom razvija postojaniju crijevnu mikrobiotu manje raznolikosti (26).

Dohrana. Uvođenje čvrste hrane znatno mijenja sastav mikrobne populacije u dojenčadi. Povećava se raznolikost crijevne mikrobiote i sinteza različitih metabolita(39). Crijevna mikrobiota dojenčadi i male djece vrlo je nestabilna. Ona će konvergirati prema stabilnoj odrasloj crijevnoj mikrobioti u 4. godini života (40). Prehrana bogata mesom dovest će do

povećanja broja bakterija otpornih na žučne soli – rodove *Alistipes*, *Bilophila* i *Bacteroides*, dok će prehrana bogata vlaknima iz hrane biljnog podrijetla pospješiti rast rodova *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* te butirata sintetizirajuće skupine (klastera) *Clostridium* XIVa bakterija (34).

Lijekovi. Antibiotici uzrokuju značajnu promjenu u sastavu crijevne mikrobiote, smanjuju njezinu raznolikost, smanjuju brojnost važnih proizvođača butirata (*Eubacterium rectale*, *Ruminococcus intestinalis*, *Coprococcus comes*), bilo uzimani *per os* ili intravenozno. Mikrobna se zajednica vraća u stanje prije antibiotske terapije za 4 tjedna do čak 31 mjesec. U nekim slučajevima smanjena raznolikost crijevne mikrobiote ostaje i do 4 godine nakon terapije. Pod utjecajem antibiotika crijevna mikrobiota postaje rezervoar rezistentnih gena na antibiotike koje mogu prenijeti potencijalne patogene. Utjecaj antibiotika je veći u ranoj fazi života kada crijevna mikrobiota nije još ustaljena. Izloženost antibioticima u ranoj životnoj dobi može biti uzrok rastućeg broja metaboličkih i autoimunih bolesti u populaciji. Valja napomenuti kako je ljudska crijevna mikrobiota kontinuirano izložena antibioticima putem hrane, budući da se antibiotici redovito koriste kod peradi i stoke (26). Međutim, osim štetnog učinka na crijevnu mikrobiotu, neki antibiotici mogu izazvati pozitivni eubiotički učinak povećanjem brojnosti za zdravlje blagotvornih bakterija u crijevima. Primjena nitrofurantoina kod urinarnih infekcija povećala je broj bakterija iz roda *Bifidobacterium* i *Faecalibacterium*, dok je primjena rifaksimina kod ljudi s upalnim bolestima crijeva, divertikulitisa, sindromom iritabilnog kolona i jetrene encefalopatije, povećala broj bakterija iz roda *Lactobacillus* bez utjecaja na raznolikost crijevne mikrobiote (41).

Osim antibiotika, lijekovi propisani za terapiju kroničnih bolesti, također imaju značajan utjecaj na sastav mikrobne zajednice. Inhibitori protonske pumpe (IPP) i antipsihotici povezani su sa smanjenjem raznolikosti crijevne mikrobiote, dok su opioidi povezani s povećanjem raznolikosti crijevne mikrobiote. Terapija IPPom je povezana sa smanjenjem bakterija iz reda

*Clotridiales* i povećanjem bakterija iz roda *Actinomycetales*, *Micrococcaceae* i *Streptococcaceae*. Takve su promjene u sastavu povezane s disbiozom i povećanim rizikom od infekcije *C. difficile*. IPP, metformin, nesteroidni protuupalni lijekovi, opioidi i antipsihotici povezani su ili s povećanjem broja patogenih bakterija iz razreda *Gammaproteobacteria* (rodovi *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* i *Citrobacter*) ili povećanjem broja bakterija iz porodice *Enterococcaceae*. Crijevna mikrobiota također varira ovisno o vrsti nesteroidnog protuupalnog lijeka (42).

Starenje. Crijevna mikrobiota ljudi nakon 70. godine života prelazi u tzv. „starački tip“. Starenjem se smanjuje raznolikost crijevne mikrobiote i smanjuje se broj mnogih za zdravlje korisnih bakterija, među kojima su rodovi *Bacteroides* i *Bifidobacteria* te butirat sintetizirajuće bakterije. Ove promjene u sastavu crijevne mikrobiote mogu biti posljedica promjene u fiziologiji probavnog sustava, promjene u prisutnosti hranjivih tvari u crijevima, ali i posljedica bolesti te smanjene tjelesne aktivnosti (26). Razine interleukina IL-1 i IL-8 u pozitivnoj su korelaciji s razinom proteobakterija u crijevima stogodišnjaka. Ova saznanja idu u prilog hipotezi da promjene crijevne mikrobiote u staroj dobi uzrokuju sistemsku upalu u tijelu, dok istovremeno upala u tijelu uzrokuje promjene u crijevnoj mikrobioti (43).

Urbanizacija. Izloženost okolini bogatoj mikroorganizmima u ranoj životnoj dobi smatra se potencijalno korisnom za povećanjem mikrobnog genskog bazena u domaćinu. Prema hipotezi "naših starih prijatelja", okruženja bogata mikroorganizmima izvor su korisnih bakterijskih vrsta koje promiču raznolikost crijevne mikrobiote, smanjujući rizik od upalnih bolesti. Odrastanje u ruralnoj sredini rezultira boljim zdravljem u djece. Veća prevalencija kroničnih upalnih bolesti u urbanoj sredini mogla bi biti posljedica smanjene izloženosti korisnim mikroorganizmima iz okoliša, poput mikroorganizma iz kućne prašine i životinja. Izloženost kućnim ljubimcima mijenja sastav crijevne mikrobiote u dojenčadi i smanjuje rizik od alergija (44).

Međuljudski odnosi. Ljudi koji žive zajedno s partnerom imaju veću raznolikost i veće bogatstvo crijevne mikrobiote od ljudi koji žive sami i od ljudi koji nisu u braku ili u vezi (45).

Tjelesna aktivnost. Crijevna mikrobiota žena koje se redovito rekreiraju sadrži veći udio roda *Akkermansia*, *Bifidobacterium* i *Roseburia* u usporedbi s crijevnom mikrobiotom žena sjedilačkog načina života (46). Profesionalni muški sportaši imaju veći broj bakterija proizvođača kratkolančanih masnih kiselina, veći broj roda *Prevotella* i više bakterijskih gena uključenih u metabolizam ugljikohidrata i aminokiselina u odnosu na ljude sjedilačkog stila života i rekreativce (47,48).

Pušenje. Pušenje je u korelaciji s padom brojnosti koljena *Bacillota* i *Actinomycetota*, a porastom *Bacteroidota* i *Pseudomonadota*. Nakon prestanka pušenja, rastu razine *Bacillota* i *Actinomycetota* te raznolikost crijevne mikrobiote (49).

Prehrana. Prehrana najviše utječe na sastav crijevne mikrobiote, više od rase, dobi, spola, higijene i geografskog podneblja. Hranjive tvari iz prehrane dojenčadi i odraslih ljudi izravno djeluju na mikroorganizme u crijevima pospješujući ili inhibirajući njihov rast. Crijevna mikrobiota brzo reagira na promijenjeni obrazac prehrane (50). Za razliku od kratkoročne promjene u prehrani, dugoročna promjena obrasca prehrane dovodi do progresivnog gubitka raznolikosti crijevne mikrobiote i nepovratnog gubitka određenih bakterijskih taksa. Taj se nepovratni gubitak ponavlja i u sljedećim generacijama. Istraživanja na životinjskom modelu su dokazala da je bila nužna istovremena suplementacija probioticima (dakle prethodno izgubljenim bakterijama) i fermentabilnim vlaknima u generaciji potomaka kako bi se povratio sastav crijevne roditeljske mikrobiote (51). Prehrambena vlakna značajno mijenjaju sastav crijevne mikrobiote. Promjene nastupaju brzo i reproducibilno kod ljudi. To znači da će pojedina bakterija pozitivno reagirati na unos pojedinog vlakna kod različitih ljudi (3). Postoji više različitih vrsta vlakana. Svako vlakno različito djeluje na crijevnju mikrobiotu.

Najzastupljenija vlakna u voću i povrću jesu pektin i inulin. Pektin povećava broj bakterija iz roda *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*. Inulin ima značajan bifidogeni učinak na crijevnu mikrobiotu (17). Vrste *Ruminococcus bromii* i *Eubacterium rectale* ispoljavaju najveći odgovor na prehranu bogatu otpornim škrobom, u obliku brzog povećanja njihove brojnosti (52,53). Smatra se da bi raznolikost prehranbenih vlakana mogla utjecati na raznolikost crijevne mikrobiote. Kemijska složenost jednog izvora vlakana može biti jednako važna kao broj različitih vlakana koja su dospjeli do mikrobne zajednice (54). Osim vlakna; ugljikohidrati, proteini, lipidi i vitamini također utječu na sastav crijevne mikrobiote (17). Simulacijom ljudskog debelog crijeva *in vitro* dokazano je da crijevna mikrobiota može koristiti masti prirodno prisutne u prehrani kao jedini izvor energije za njihov rast i razvoj. U odsutnosti ugljikohidrata i proteina povećava se broj bakterija iz roda *Alistipes*, *Bilophila* i nekoliko rodova iz razreda *Gammaproteobacteria*. Nasuprot tome, smanjuje se broj iz roda *Bacteroides*, *Clostridium* i *Roseburia*. Također je opažen pad u sintezi kratkolančanih masnih kiselina i antioksidansa *in situ*, čime se objašnjava potencijalno negativan učinak visokomasne prehrane na zdravlje domaćina (55). Međutim, sastav crijevne mikrobiote određuje kakav će odgovor na prehranu uslijediti. Naime, ljudi koji imaju različiti sastav crijevne mikrobiote, ispoljit će različite promjene u crijevnoj mikrobioti prilikom iste prehranbene intervencije (3).

Dosadašnja saznanja idu u prilog tome da prehrana u ranoj životnoj dobi ima veći utjecaj na crijevni mikrobiom nego prehrana kasnije u životu. Učinak prehrane i mikrobioma na razvoj i zdravlje domaćina su potencijalno doživotni. Štoviše, mogu se zadržati u sljedećim generacijama. Čovjek može promijeniti 30 % do 40 % sastava odrasle crijevne mikrobiote putem prehrane, tjelesne aktivnosti, stila života, bakterijskih infekcija, antibiotskim terapijama i kirurškim operacijama. Preostalih 60 % do 70 % sastava kontrolirani su isključivo genetikom i epigenetikom, uključujući čimbenicima kao što su majčino zdravlje i njezina prehrana tijekom trudnoće te dojenje (56).

## 1.7. Metaboliti crijevne mikrobiote

Metaboliti, produkti crijevne mikrobiote, uključuju molekule koje su za zdravlje blagotvorne i molekule koje su potencijalno štetne. Kolonociti su uglavnom izolirani od izravnog kontakta sa stanicama crijevne mikrobiote debelim slojem mucina koji obavija zdravu stijenku crijeva. S druge pak strane, metaboliti prolaze kroz taj sloj mucina, a mnogi ulaze i u krvotok. Upravo zato biokemijske reakcije crijevne mikrobiote imaju značajan utjecaj na fiziologiju i zdravlje čovjeka (57).

Kratkolančane masne kiseline. Tri kratkolančane masne kiseline (engl. short chain fatty acid, SCFA): octena kiselina ili acetat, propionska kiselina ili propionat i maslačna kiselina ili butirat, čine oko 90 % ukupnih kratkolančanih masnih kiselina prisutnih u debelom crijevu. U uzorku fecesa približni omjer acetata, propionata i butirata je 3 : 1 : 1 (58). SCFA podržavaju sintezu antitijela, odnosno imunoglobulina (59). SCFA su najveći izvor negativno nabijenih iona u debelom crijevu. Njihov prijenos kroz stijenku crijeva uključuje razmjenu s anionima bikarbonata, što pomaže u kontroli pH vrijednosti kolona, a također uključuje kotransport s pozitivno nabijenim natrijem i vodikom, što pomaže u apsorpciji soli i vode iz debelog crijeva u krvotok (60). Butirat, čiji transport u kolonocite (epitelne stanice u debelom crijevu) inhibiraju sulfidi, je glavni izvor energije za kolonocite, dok glavnina acetata i propionata ulazi u cirkulaciju (58). Budući da se propionat uglavnom metabolizira u jetri, acetat je kratkolančana masna kiselina koja dostiže najveću koncentraciju u krvi. Acetat se u stanici može pretvoriti u acetil-CoA i pritom ući u Krebsov ciklus, pri čemu nastaju molekule bogate energijom. Iz butirata nastaju dva acetil-CoA, dok se propionat može koristiti kao izvor energije nakon što se prvo pretvorio, odnosno metabolizirao u glukozu (61). Butirat ima ulogu u ekspresiji gena u kolonocitima. Naime, butirat inhibira enzim histon deacetilazu koja deacetilira histon. Uslijed inhibicije histon deacetilaze dolazi do kondenzacije kromatina i prestanka dostupnosti gena za transkripciju, čime se sprječava ekspresija gena. Ovo je



mehanizam kojim butirat vodi stanice kolorektalnog karcinoma u apoptozu, programiranu staničnu smrt. Propionat također inhibira histon deacetilazu. Preferirani izvor energije za epitelne stanice u debelom crijevu jest butirat, a ne glukoza. Katabolizam butirata se temelji na aerobnim reakcijama beta oksidacije koje zahtijevaju kisik, smanjujući pritom razinu raspoloživog kisika u lumenu crijeva. Time se održavaju anaerobni uvjeti u debelom crijevu koji pogoduju rastu strogim anaerobima. Ako je razina butirata u kolonu nedostatna, kolonociti „gladuju“, što za posljedicu ima razvoj disbioze. Naime, manjak butirata uzrokuje prebacivanje kolonocita na glukozu kao glavni izvor energije. Fermentacijom glukoze do laktata se oslobađa kisik što doprinosi rastu fakultativno anaerobnih patogena u debelom crijevu. Osim toga, butirat ima ulogu u supresiji upalnih reakcija u debelom crijevu koje su karakteristične za kolitis (58,62). Butirat biva prepoznat od strane receptora slobodnih masnih kiselina (engl. *free fatty acid receptors*, FFAR) koji se nalaze na površini više vrsta ljudskih stanica. Acetat i propionat također sjedaju na FFAR. FFAR 2 i FFAR3 ulaze u interakciju s SCFA proizvedenim od strane crijevne mikrobiote, što pokreće niz biokemijskih reakcija koje se još uvijek istražuju. Ova dva receptora se nalaze duž stijenke crijeva, u perifernom živčanom sustavu, u stanicama urođenog imunskog sustava, u adipoznom tkivu i u gušterači. Aktivacija receptora regulira stanične reakcije, među kojima su upalne reakcije, metabolizam glukoze, metabolizam kolesterola, osjetljivost na inzulin i lučenje hormona (primjerice aktivacija receptora propionatom rezultira sintezom hormona sitosti). Čini se da butirat ima veću ulogu u prevenciji kolorektalnog karcinoma i kolitisa zahvaljujući svom protuupalnom učinku, dok propionat i acetat imaju veću ulogu u prevenciji metaboličkih bolesti regulacijom metabolizma kolesterola, metabolizmom glukoze i regulacijom lipogeneze (58). Disbioza s nižim razinama SCFA povezana je sa supresijom FFAR2 i FFAR3 signalizacije. Disregulacija ovih signalnih puteva prisutna je kod više bolesti, uključujući dijabetes, pretilost, IBS, Crohnova bolest, aterosklerozu, giht, astma, kardiovaskularne bolesti, artritis, hipertenziju i kolitis (63). SCFA

održavaju cjelovitost sluznice crijeva. Sačuvani integritet crijeva sprječava translokaciju bakterija i endotoksina u krv te posljedičnu sistemsku upalu (64). SCFA reguliraju stečeni i urođeni imunostani sustav ispoljavajući protuupalni učinak tako što smanjuju diferencijaciju monocita u makrofage i dendritičke stanice, smanjuju regrutaciju i migraciju makrofaga, neutrofila i dendritičkih stanica te reguliraju diferencijaciju limfocita T i limfocita B (65). Bakterije koje stvaraju butirat smanjuju rizik od infekcija donjih dišnih puteva (64). Butirat ispoljava svoj protuupalni učinak ubrzavajući polarizaciju M2 makrofaga i smanjujući sintezu upalnih citokina TNF- $\alpha$ , IL-12b i IL-6 te potiče sintezu enzima arginaza 1 s antivirusnim i imunomodulatornim učinkom. Butirat epigenetskim mehanizmima potiče diferencijaciju naivnih T limfocita u T regulatorne stanice. T regulatorne stanice koče autoupalne i autoimune reakcije pa time štite tkiva od oštećenja. Propionat također potiče proliferaciju T regulatornih stanica. Acetat povećava metabolizam i ekspresiju gena B limfocita, potičući tako proizvodnju anti-SARS-CoV-2 protutijela pa time usporava progresiju bolesti (66) .

Sekundarne žučne soli. Žučne kiseline sintetizirane u jetri nazivaju se primarne žučne kiseline. Najvažnije su kolna kiselina i kenodeoksikolna kiselina koje se u jetri konjugiraju s aminokiselinom glicinom ili s taurinom, te s natrijevim ionima tvoreći soli. Vrsta prehrane je ta koja diktira hoće li se žučne kiseline konjugirati s glicinom (u slučaju pretežito biljne prehrane) ili s taurinom (u slučaju prehrane bogate hranom životinjskog podrijetla). Kada žuč dospije u debelo crijevo, nekoliko bakterijskih vrsta hidroliziraju, odnosno dekonjugiraju žučne soli. U slučaju konjugata taurokolne kiseline, hidrolizom veze između žučne soli i aminokiseline oslobađa se taurin i kolin. Bakterija *Bilophila wadsworthii* raste na račun razgradnje taurina u amonijak, acetat i sumporovodik. Visoka koncentracija sumporovodika je genotoksična i proupalna za kolonocite te koči korištenje butirata kao izvora energije. Bakterija *Clostridium scindens* pretvara kolnu kiselinu u deoksikolnu kiselinu - sekundarnu žučnu kiselinu koja promovira stvaranje tumora (67). Metabolizam konjugiranih žučnih kiselina od

strane crijevne mikrobiote smatra se vrlo mogućim mehanizmom etiogeneze kolorektalnog karcinoma kod prehrane bogate mastima i proteinima životinjskog podrijetla (58).

Trimetilamin oksid. Pri visokoj koncentraciji kvaternih amina kolina, betaina, fosfatidilkolina i L-karnitina u crijevima, mikrobna trimetilamin liaza metabolizira spomenute amine u trimetilamin (TMA), koji se potom u jetri dalje metabolizira u trimetilamin oksid (TMAO). Unos veće količine mesa i kvaternih amina je povezan s višim razinama TMAO samo kod ljudi čija je crijevna mikrobiota bogata bakterijama koje sadrže trimetilamin liazu, kao što je bakterija *Alistipes shahii*, glavni proizvođač TMA. Postoji povezanost između TMAO i ateroskleroze, nealkoholne masne jetre, dijabetesa, zatajenja srca, pretilosti i hipertenzije. Nije poznato još uvijek je li TMAO uzrok ili samo indikator bolesti (68,69).

Produkti fermentacije proteina. Glavni produkti fermentacije proteina jesu amonijak i amini koji su pri visokim koncentracijama toksični za stanicu. Nastali amini se u debelom crijevu mogu podvrgnuti reakciji nitrozacije pri čemu nastaju kariconogeni nitrozamini. Mikrobna fermentacija aminokiselina (koje posjeduju različite kemijske strukture) rezultira većim brojem različitih produkata u usporedbi s fermentacijom šećera. Fermentacija metionina i cisteina, aminokiselina sa sumporom, rezultira sintezom sumporovodika. Fermentacija aromatskih aminokiselina tirozina, triptofana i fenilalanina rezultira sintezom toksičnih indola, fenola i krezola. Indol i krezol su neuroaktivni mikrobni metaboliti. Fermentacija aminokiselina razgranatog lanca, kao što su izoleucin, valin i leucin rezultira masnim kiselinama razgranatog lanca. Nema sumnje da je ukupni učinak produkata fermentacije proteina na zdravlje debelog crijeva negativan i može doprinijeti povećanju rizika od razvoja raka debelog crijeva (70,71).

### **1.8. 2019. godina: od Wuhana do globalne pandemije**

U prosincu 2019. godine u kineskom gradu Wuhan izbijala je bolest teškog akutnog respiratornog sindroma nazvana COVID-19. To je zarazna bolest uzrokovana koronavirusom 2, povezana s teškim akutnim respiratornim sindromom (SARS-CoV-2). Novi koronavirus 2 pripada obitelji *Coronaviridae*. COVID-19 je postao globalna prijetnja zdravlju ljudi. Osim infekcije respiratornog sustava te izazivanja respiratornih i drugih tegoba (vrućica, suhi kašalj, dispneja, mialgija, glavobolja itd.), SARS-CoV-2 također inficira gastrointestinalni trakt, gdje se intenzivno razmnožava. Otkrivena je virusna RNA u fekalnim uzorcima i rektalnim brisevima pacijenata s COVID-19. Procjenjuje se da 48 % pacijenata oboljelih od COVID-19 ima fekalni uzorak pozitivan na virusnu RNA, čak i kada virus nije više prisutan u brisu nosa ili u uzorku sputuma. Virusi izolirani iz fecesa mogu preživjeti par dana. SARS-CoV-2 može ostati zarazan u izmetu, posebno kod pacijenata s dijarejom (66). Dokazana produljena aktivnost SARS-CoV-2 u crijevima prethodno oboljelih pacijenata s negativnim brisom iz nosa, čak i u odsutnosti tegoba gastrointestinalne prirode, ističu važnost duljeg nadzora i postojeću opasnost od potencijalnog fekalno-oralnog prijenosa virusa (72). Premda COVID-19 primarno obuhvaća simptome povezane s respiratornim sustavom, ipak utječe i na druge organske sustave, poglavito na gastrointestinalni sustav. Prevalencija gastrointestinalnih tegoba među pacijentima s COVID-19 kreće se od 39.9% do 61.3% Najčešći simptom je gubitak apetita, a slijede ga mučnina, povraćanje, dijareja, abdominalna bol, konstipacija i žgaravica (73).

### **1.9. Epidemiologija COVID-19**

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, pandemija COVID-19 uzrokovala je do 31. prosinca 2023. godine 773,8 milijuna zaraza i 7 milijuna smrti u svijetu. U Hrvatskoj je od COVID-19 do kraja 2023. godine zaraženo 1 309 728, a umrlo 18 687 ljudi (74). Zaraženi su imali asimptomatsku, blagu, tešku ili letalnu bolest sa simptomima umora, gubitka osjeta okusa

i mirisa, vrućice, curenja nosa, kašlja, dispneje, proljeva, glavobolje i višestrukog zatajenja organa. Bolest je u prosjeku trajala od jedan od četiri tjedna (75). Značajan dio oboljelih od COVID-19, prema procjeni 10 % do 30 %, imao je perzistirajuće simptome nakon akutne infekcije (engl. *post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection*, PASC), što je poznato kao „dugi COVID-19“ ili post COVID-19 sindrom. Dugoročni simptomi uključuju: umor, „maglu u mozgu“, dispneju, bolove u prsima i zglobovima, te disfunkcije probavnog, dišnog, neurološkog i srčanog organskog sustava. Dugi COVID-19 je stanje koje se obično javlja tri mjeseca nakon početka bolesti, sa simptomima koji traju najmanje dva mjeseca i ne mogu se objasniti drugim dijagnozama (76).

#### **1.10. Mehanizam bolesti COVID-19**

Mehanizam razvoja bolesti COVID-19 karakteriziran je agresivnom sistemskom upalom uzrokovanom SARS-CoV-2 virusom te imunosnim odgovorom samog domaćina. Agresivna sistemska upala je nazvana citokinskom olujom. S citokinskom olujom povezuje se široki raspon simptoma: od kardiovaskularnih, nefroloških, gastrointestinalnih, neuropsihijatrijskih i respiratornih. Težina oblika COVID-19 i prognoza preživljavanja ovisi i o razmjeru citokinske oluje. Smatra se da povećane razine citokina doprinose glavnom uzroku smrti kod COVID-19 pacijenata - sindromu akutnog respiratornog distresa. Ovaj je sindrom karakteriziran teškom ozljedom pluća, oštećenjem alveola, razvojem plućnog edema i progresivnim zatajenjem disanja. Veliki se napor ulaže u sprječavanje citokinske oluje s ciljem smanjenja oštećenja pluća, tj. prevencije sindroma akutnog respiratornog distresa kod pacijenata. SARS-CoV-2 može smanjiti i urođeni i stečeni imunosni sustav domaćina. Upravo zbog početnog „utišavanja“ imunosnog sustava, moguće dolazi do naknadne pretjerane kompenzacije imunosnog sustava domaćina u obliku razvoja hiperinflamatornog stanja kao odgovora na eksponencijalni rast virusa odnosno na brzo rastuće virusno opterećenje u tijelu. Iako se

citokinska oluja smatra pokušajem tijela da obnovi imunosnu funkciju, ona značajno povećava rizik od razvoja težih oblika bolesti i smrti od COVID-19. Bolesnici s težim oblikom bolesti imaju značajno povišen profil citokina IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, IP-10, MCP-1, TNF- $\alpha$ , MIP-1- $\alpha$  i G-CSF u usporedbi s pacijentima s blagim do umjerenim oblikom COVID-19. Značajno povećanje navedenih citokina je usko povezano s razmjerom upalnog oštećenja izazvanog infekcijom SARS-CoV-2. Stoga se smatraju ciljevima terapijskih intervencija kako bi se spriječio razvoj sindroma akutnog respiratornog distresa (77). Angiotenzin konvertirajući enzim 2 (ACE-2) i njegov kofaktor, transmembranska serin proteaza 2 (TMPRSS2) su receptori za vezivanje SARS-CoV-2 na stanicu domaćina. Iako su tip II alveolarne epitelne stanice (ili pneumociti) primarno ciljno mjesto zaraze SARS-CoV-2, taj virus može također zaraziti enterocite putem istog receptora – ACE-2 i njegovog kofaktora. Štoviše, ekspresija ACE-2 je veća u enterocitima ileuma i kolona nego u pneumocitima. Dokazana je aktivna replikacija virusa u crijevima. Razlikuju se primarna i sekundarna zaraza probavnog trakta. U primarnom slučaju, stanice crijevnog endotela su izravno zaražene SARS-CoV-2. Te se stanice također mogu zaraziti sekundarnim putem, usred sustavne upale u viremiji koja oštećuje crijevnu barijeru i translokacije virusa iz dišnog epitela do crijevne sluznice. Poremećeni integritet i funkcija crijevne sluznice u infekciji SARS-CoV-2 ključni je čimbenik koji može dovesti do translokacije mikroba i endotoksina iz crijeva u krv, uzrokujući snažni sustavni upalni odgovor i sepsu. Infekcija SARS-CoV-2 ima trostruki šteni učinak na crijevnu barijeru. Poremećuje se biološka barijera zbog nastale disbioze mikrobiote. Poremećuje se mehanička barijera jer se gubi funkcija okludini spojeva (okludini, kladini i zonulin) između epitelnih stanica crijeva u selektivnoj regulaciji propusnost crijeva. Tijekom infekcije SARS-CoV-2 dolazi do promjene u imunologiji crijevne barijere jer se smanjuje broj regulatornih T stanica što dovodi do pretjerane imunostimulacije. Smanjuje se sazrijevanje B stanica. U crijevima se aktiviraju CD4+ i CD8+ T stanice, Th17 stanice, neutrofili, dendritične stanice i makrofagi.

Povećava se ekspresija interferona tipa I i III te drugih proupalnih citokina IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-12 i TNF- $\alpha$  (78).

### 1.11. Rizični faktori za razvoj bolesti

HLA aleli. Određeni aleli sustava humanog leukocitnog antigena (engl. *human leukocyte antigen*, HLA), odnosno HLA haplotipovi, povezani su s genetskom predispozicijom na COVID-19. Kombinacije alela *HLA-B\*46:01114* ima najmanje veznih mjesta za SARS-CoV-2, dok kombinacija alela *HLA-B\*15:03* ima veću sposobnost predočavanja antigenskih SARS-CoV-2 peptida na T staničnom receptoru T limfocita. Stoga osobe haplotipom *HLA-B\*46:01114* mogu imati veći rizik za razvoj težeg oblika bolesti zbog slabog predočavanja antigenskih peptida imunom sustavu domaćina. HLA aleli bi također mogli utjecati na pojavu dugog COVID-19 zbog uloge HLA u razvoju autoimunih reakcija. Različiti SARS-CoV-2 antigenski peptidi mogu imati različitu imunogenost na različitim HLA. *HLA-B\*40:01*-predstavljani antigenski peptidi se smatraju najimunogenijima (75).

Spol. Muškarci imaju veći rizik od hospitalizacije i smrti od COVID-19. Pacijenti s rakom prostate nakon farmakološke kastracije, odnosno nakon terapije deprivacije androgena imaju manji rizik da obole od COVID-19 u usporedbi s pacijentima bez terapije deprivacije androgena. Slobodni testosteron je povezan s težim simptomima COVID-19 kod muškaraca. Premda su muškarci pod većim rizikom od COVID-19, žene su pod većim rizikom od razvoja sindroma post COVID-19 (odnos žene : muškarci je otprilike 4 : 1). Ovisno o hormonskom statusu, žene imaju različiti stupanj rizika od akutnog i dugotrajnog COVID-19. Menopauza i postmenopauza je povezana s većim rizikom za teški oblik COVID-19 u usporedbi s razdobljem prije menopauze. Niža razina estrogena u postmenopauzi je povezana s manjim rizikom smrti od COVID-19. Estrogen bi mogao imati važnu ulogu o ozbiljnosti simptoma

bolesti. Gen za angiotenzin konvertirajući enzim 2 (engl. *angiotensin converting enzyme*, ACE-2), glavni receptor za ulazak SARS-CoV-2 u stanice, nalazi se na X spolnom kromosomu. Estrogen smanjuje ekspresiju ACE-2, pa je ekspresija ACE-2 niža u plućima žena nego u plućima muškaraca. Manja ekspresija ACE-2 kod žena može uzrokovati slabiji ulazak virusa u tijelo domaćina i posljedično slabiji oblik bolesti. Nadalje, gen za protein Toll-like receptor 7 (TLR-7), koji regulira proizvodnju antivirusnog interferona, također se nalazi na X spolnom kromosomu. Veća ekspresija TLR-7 u žena bi mogla dovesti do proizvodnje veće razine interferona i posljedično učinkovitijeg uklanjanja virusa. S druge strane, kontinuirana signalizacija interferonom, odnosno njegovo dugotrajno djelovanje, može predisponirati žene autoimunom bolestima i dugom COVID-19 zbog mogućeg razvoja preaktivnog imunskog sustava i stanja kronične upale (75). Evolucija je podarila prednost bolje imunosne zaštite ženama svih životinjskih vrsta, pa tako i *Homo sapiens* vrste jer rađaju i podižu potomstvo. Određeni X-vezani geni s imunosnim funkcijama (geni za IL-4, IL-10, IL-13, FoxP3, CD-40L i TLR-7 i TLR-8) mogu izbjeći inaktivaciju s drugog spolnog X kromosoma kod žena i ostaju aktivni, što dovodi do dvostruko jače imunosne zaštite od patogena kod žena. U muškaraca, određeni Y-vezani geni (geni za SRY i SOX9) prigušuju urođeni imunitet muškaraca, dok testosteron potiče ekspresiju transmembranske proteaze TMPRSS2 (engl. *transmembrane protease serine 2*). Kod žena, estrogen potiče jači urođeni imunosni odgovor posredovan interferonom te jači stečeni imunosni odgovor posredovan protutijelima. Progesteron ima također zaštitni učinak od virusnih infekcija. Kod muškaraca, androgeni hormoni imaju imunosupresivni učinak i inhibiraju stvaranje protutijela kod virusnih infekcija. Osim jačeg urođenog i stečenog imuniteta te veće ekspresije *TLR* gena, žene imaju veću ekspresiju proupalnih gena i gena s imunomodulatornim funkcijama u limfocitima B, veći broj jače aktivnih pomoćnih i citotoksičnih T limfocita i veći omjer CD4+ : CD8+ T limfocita (79).



Dob. Starija dob je faktor rizika za teže simptome COVID-19. Rizik od smrti se povećava za svakih 5 godina. Prema procjeni, pojavnost simptoma u dobnoj skupini od 10 do 19 godina iznosi 21 %, dok se pojavnost simptoma povećava na 69 % kod ljudi starijih od 70 godina. Ne zna je li dob čimbenik rizika i za dugi COVID-19 (75).

Crijevna mikrobiota. Različite vrste koljena *Bacillota* različito reguliraju ekspresiju ACE-2. *Bacteroides dorei*, *Bacteroides massiliensi*, *Bacteroides thetaiotaomicron* i *Bacteroides ovatus* mogu smanjiti ekspresiju ACE-2 ekspresija u mišjim crijevima, što otvara mogućnost da bi rod *Bacteroides* potencijalno mogao imati zaštitnu ulogu protiv SARS-CoV-2 infekcije ometanjem ekspresije ACE-2 (80).

Alkoholizam. Unos piva, alkoholnih cidera i žestokih pića povisuje rizik od COVID-19, neovisno o učestalosti konzumiranja i količini alkohola. S obzirom na nagli porast prodaje alkohola u pandemiji i oprečnim rezultatima u dosadašnjim istraživanjima povezanosti alkohola i ozbiljnosti bolesti, u tijeku su daljnja istraživanja (75). Alkohol utječe na gotovo svaku stanicu u plućima. Većina ovih promjena potencijalno povećava rizik od infekcije COVID-19 i teže upale pluća. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se razjasnile mogućnosti liječenja COVID-19 u osoba s poremećajima konzumiranja alkohola (81).

### **1.12. Potencijalni biomarkeri za COVID-19**

COVID-19 je povezan s dugotrajnom povećanom propusnosti crijeva. Teži simptomi COVID-19 povezani su s višim razinama zonulina u plazmi. Zonulin je biomarker crijevne propusnost. Teži simptomi su također povezani s višim razinama intestinalnog proteina koji veže masne kiseline (engl. *intestinal fatty acid-binding protein*, I-FABP) u urinu. I-FABP je biomarker crijevnih ozljeda. Nadalje, teži simptomi COVID-19 su povezani s višim razinama kalprotektina u serumu i fecesu. Kalprotektin je biomarker upalnih bolesti crijeva. Rast kalprotektina se

objašnjava kao rezultat kemotaksije imunskih stanica i hipoksije u crijevima. Snažna korelacija serumskog kalprotektina s lošim kliničkim ishodima naglašava potencijalnu vrijednost ovog markera u identifikaciji pacijenata s visokim rizikom za napredovanje COVID-19 (78). IL-18 može poslužiti kao pokazatelj crijevne infekcije kod pacijenata s COVID-19. Razina proupalnog citokina IL-18 viša je u uzorcima fecesa ispitanika oboljelih od COVID-19 nego kod ispitanika sa sezonskom gripom i kod zdravih kontrola. Štoviše, razina IL-18 u fekalnom supernatantu viša je kod pacijenata s COVID-19 čiji je feces pozitivan na SARS-CoV-2 RNA nego kod onih čiji je feces negativan na virus. Stoga se predlaže upotreba IL-18 kao biomarkera crijevne infekcije kod oboljelih od COVID-19 (82).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Uzimajući u obzir važnu ulogu crijevne mikrobiote u sazrijevanju, regulaciji i poticanju imunskog sustava domaćina, identifikacija sastava crijevne mikrobiote kod pacijenata s COVID-19 ima potencijalnu vrijednost kao dijagnostički i prognostički marker bolesti. Zbog dugotrajnosti i velikog broja zaraženih sa SARS-CoV-2, potrebno je istražiti i razumjeti odnos između crijevne mikrobiote i COVID-19. Cilj ovog rada je pružiti uvid u promjene u sastavu crijevne mikrobiote u osoba sa COVID-19 i osoba koji su se oporavile od COVID-19 u usporedbi s onima koji nisu bili zaraženi, odnosno zdravim kontrolama. Istraživanje i pregled sastava crijevne mikrobiote kod osoba koje su se oporavile od COVID-19 može biti od neprocjenjive pomoći u razumijevanju simptoma post-akutnog COVID-19 sindroma, takozvanog dugog COVID-19. Također, terapijske intervencije koje utječu na promjenu sastava crijevne mikrobiote mogu otvoriti nove horizonte u liječenju oboljelih od COVID-19 i ubrzavanja njihovog oporavka nakon bolesti.

### 3. MATERIJAL I METODE – SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI

Pregledni članci, opservacijske analitičke studije, kliničke studije, sistemski pregledni članci i meta analize objavljene do 9. rujna 2023. pretraživane su u znanstvenim bibliografskim bazama ScienceDirect, Pubmed, Medline i Cochrane Collaboration Library, te na mrežnima stranicama relevantnih institucija, kao što je Svjetska zdravstvena organizacija. Pretraživanje je bilo prema sljedećim ključnim riječima zajedno s operatorima „OR“ i „AND“: *microbiota, microbiome, COVID-19, SARS-CoV-2, probiotic, prebiotic, FMT, diet, food, vitamin*. Isključene su eksperimentalne studije mikrobiote i suplementacije kod COVID-19 temeljene na istraživanjima *in vitro* i na animalnom modelu.

#### 3.1. Disbioza crijevne mikrobiote u oboljelih od COVID-19

Sastav crijevne mikrobiote COVID-19 pacijenata pokazuje značajne promjene (disbiozu), uglavnom karakterizirane povećanjem brojnosti oportunističkih patogena i smanjenjem brojnosti korisnih komensala. Disbioza crijeva usko je povezana s gastrointestinalnim simptomima i težinom bolesti COVID-19.

Primjerice, brojnost imunomodulatornih crijevnih bakterija *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bifidobacterium adolescentis* i *Bifidobacterium longum*, značajno je pala kod oboljelih od COVID-19, a njihovo smanjenje je u korelaciji s povećanjem razine upalnih citokina CXCL10, IL-10, TNF- $\alpha$ , CCL2 i CRP (66). *Bifidobacterium* posjeduje antivirni i antibakterijski učinak, ali također potiču rad T reg stanica i sazrijevanje tolerogenih dendritičnih stanica (78). Povećana brojnost roda *Streptococcus* povećava rizik od oportunističkih patogenih infekcija (66). Dodatno, pacijenti oboljeli od COVID-19 imaju povećani broj roda *Bacteroides*, a smanjeni broj koljena *Bacillota*. Smanjeni omjer *Bacillota* prema *Bacteroides* indikator je

nepredvidive prognoze liječenja i težeg oblika COVID-19. Smanjenje za zdravlje blagotvorne porodice bakterija *Lachnospiraceae* te blagotvornih rodova *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Roseburia* i *Ruminococcus* kod oboljelih od COVID-19 slično je kao i kod upalnih bolesti crijeva. Poput omjera *Bacillota/Bacteroidota*, pad gore spomenutih bakterija također se pokazao jakim prediktorom težine bolesti i pogoršanja prognoze liječenja. Brojnost rodova *Faecalibacterium* i *Ruminococcus* ostajala je snižena i 6 mjeseci nakon zaraze (64,83). Dakle, dokazan je gubitak korisnih bakterija čija je funkcija održavanje integriteta i funkcije mukoznih barijera, imunomodulacija, metabolizam te antimikrobni učinak prema patogenim mikroorganizmima. S druge strane, prisutnost i povećana brojnost uobičajenih oralnih komensala i patogena u crijevima daju naslutiti moguću translokaciju mikroorganizama iz oralne i nazofaringealne šupljine u crijeva zbog povećane propusnosti membrana sluznice kao posljedica upale (84). *Faecalibacterium prausnitzii* i *Clostridium leptum* su u pozitivnoj korelaciji s brojem neutrofila u bolesnika s COVID-19. *Coprobacillus*, *Clostridium ramosum* i *Clostridium symbiosum* su u negativnoj korelaciji s aktivnošću NK stanica, dok su *Bacteroides uniformis*, *Faecalibacterium prausnitzii* i *Subdoligranulum* u pozitivnoj korelaciji s B limfocitima.

Ekspresija ACE-2 receptora na epitelnim stanicama tankog crijeva je značajno povezana s težinom probavnih tegoba i viralnom aktivnosti u fecesu. *Coprobacillus* može povećati ekspresiju ACE-2 receptora, što može biti važan faktor u sastavu crijevne mikrobiote jer modulira apsorpciju aminokiselina u crijevima.

*Eggerthella* snažno aktivira Th17 limfocite, zbog čega se narušava integritet crijevne sluznice, što povećava rizik od infekcije SARS-CoV-2. *Clostridium ramosum* i *Clostridium hathewayi* povezani su s većim rizikom od tromboze portalne vene kod COVID-19. *C. difficile* može pogoršati probavne tegobe kod COVID-19. S druge strane, *Clostridium butyricum* i *Clostridium leptum*, koji su smanjeni u pacijenata s COVID-19 proizvode butirat.

*Streptococcus* je u pozitivnoj korelaciji s ekspresijom proupalnih citokina, među kojima IL-18 i TNF- $\alpha$ . *Rothia* je moguće povezana s upalom pluća. *Bifidobacterium* imaju imunomodulatorni učinak na Th17 i protuupalni učinak. *Bifidobacterium* bi mogla imati inhibitorni učinak na citokinsku oluju i razvoj upale kod pacijenata s COVID-19. COVID-19 pacijenti imaju povećani broj roda *Bacteroides*, a smanjeni broj roda *Prevotella* (85).

Glavne promjene u sastavu mikrobiote tijekom COVID-19 su značajno smanjenje  $\alpha$  raznolikosti već u ranim fazama bolesti, različita  $\beta$  raznolikost crijevne mikrobiote u kojoj je povećana brojnost fakultativnih anaeroba, a smanjena brojnost obligatnih anaeroba. Istraživanja govore u prilog postojanju potencijalne veze između crijevne disbioze i markera upale u perifernoj cirkulaciji – citokina (86). Crijeva pacijenata s COVID-19 su značajno osiromašena rodovima bakterija koje proizvode SCFA (64). Niža razina imunomodulatornih rodova *Roseburia* i *Eubacterium* kod COVID-19, rezultira nižim razinama protuupalnog butirata, što bi za posljedicu moglo imati razvoj jače upale pluća u COVID-19 pacijenata. *Roseburia* također potiče sintezu protuupalnog citokina IL-10 (87). Težina bolesti je u obrnutoj korelaciji s butiratom sintetizirajućim bakterijama (85).

### **3.2. Usporedba sastava crijevne mikrobiote oboljelih od COVID-19 i zdravih kontrola**

Gotova sva provedena istraživanja crijevne mikrobiote u ljudi oboljelih od COVID-19 pokazala su značajnu povezanost između ove zarazne bolesti i disbioze crijevne mikrobiote (Tablica 1).

Sustavni pregledni članak koji je uključio 27 istraživanja zaključuje da je na razini koljena bio povećani broj *Bacteroidota* u oboljelih od COVID-19 (u 2 od 3 istraživanja), a smanjeni broj *Bacillota* (4/4 istraživanja). Na razini porodice, bio je smanjeni broj *Lachnospiraceae* (3/3 istraživanja) i *Ruminococcaceae* (3/3 istraživanja) u oboljelih. Na razini roda, u oboljelih je bio

povećani broj *Actinomyces* (4/4 istraživanja), *Enterococcus* (7/7 istraživanja), *Escherichia* (4/4 istraživanja), *Granulicatella* (2/2 istraživanja), *Lactobacillus* (5/5 istraživanja), *Rothia* (3/3 istraživanja), *Staphylococcus* (2/2 istraživanja), *Streptococcus* (6/7 istraživanja) i *Veillonella* (2/2 istraživanja); a smanjeni broj *Anaerostipes* (3/4 istraživanja), *Blautia* (4/6 istraživanja), *Coprococcus* (7/7 istraživanja), *Dialister* (3/3 istraživanja), *Dorea* (5/5 istraživanja), *Faecalibacterium* (7/8 istraživanja), *Fusicatenibacter* (2/2 istraživanja), *Intestinibacter* (2/2 istraživanja), *Klebsiella* (2/2 istraživanja), *Lachnospira* (2/2 istraživanja), *Prevotella* (4/4 istraživanja), *Roseburia* (7/7 istraživanja), *Romboutsia* (2/2 istraživanja), *Ruminococcus* (5/5 istraživanja) i *Subdoligranulum* (2/2 istraživanja). Na razini vrste, u oboljelih je bio smanjeni broj *Adlercreutzia equolifaciens* (2/2 istraživanja), *Bifidobacterium adolescentis* (2/2 istraživanja), *Dorea formicigenerans* (2/2 istraživanja), *Eubacterium hallii* (2/2 istraživanja), *Eubacterium rectale* (2/2 istraživanja), *Faecalibacterium prausnitzii* (5/5 istraživanja), *Klebsiella pneumoniae* (2/2 istraživanja), *Ruminococcus bromii* (2/2 istraživanja), *Ruminococcus obeum* (2/2 istraživanja) i *Streptococcus salivarius* (2/2 istraživanja); a povećani broj *Bacteroides dorei* (2/2), *Bacteroides ovatus* (2/2), *Bacteroides vulgatus* (2/2), *Bifidobacterium longum* (2/2), *Clostridium hathewayi* (2/2), *Enterococcus faecium* (2/2) i *Ruminococcus gnavus* (3/3) (64).

Meta-analiza 11 istraživanja crijevne i oralne mikrobiote kod COVID-19 provedenih u SAD-u, Španjolskoj, Francuskoj i Kini, dokazala je da su uzorci crijevnog mikrobioma raznolikiji od oralnih uzoraka. Dokazano je smanjeno bogatstvo crijevne mikrobiote. Identificirano je 51 dominantan bakterijski rod čija se brojnost značajno razlikovala između zaraženih i nezaraženih ispitanika. Rodovi su pripadali pretežito koljenu *Bacillota*, s najkonzistentnijim smanjenjem kod *Fusicatenibacter*, bakterijama *Lachnospiraceae* NK4A316, *Lachnoclostridium*, *Blautia*, *Roseburia*, a najkonzistentnijim povećanjem kod rodova *Finegoldia*, *Porphyromonas*, *Anaerococcus* i *Peptoniphilus* kod oboljelih od COVID-19 u

usporedbi sa zdravim pojedincima. U crijevima oboljelih od COVID-19 je dokazana povećana brojnost patogenih bakterija iz rodova *Campylobacter*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Anaerococcus*, *Actinomyces*, *Porphyromonas* i *Bacteroides* (84).

Sustavni pregledni članak koji je uključio 22 istraživanja navodi kako se u najvećem broju pacijenata smanjila brojnost rodova *Ruminococcus*, *Alistipes*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Fusicathenibacter* i *Blautia*, dok se povećala brojnost rodova *Eggerthella*, *Bacteroides*, *Actinomyces*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Rothia* i *Collinsella*. Također, identificirane su promjene u sastavu crijevnne mikrobiote koje su povezane s težinom bolesti i lošom prognozom. To je povećanje brojnosti rodova *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Campylobacter*, *Rothia*, *Corynebacterium*, *Megasphaera*, *Enterococcus* i *Aspergillus* spp.; a smanjenje brojnosti rodova *Roseburia*, *Eubacterium*, *Lachnospira*, *Faecalibacterium*, kao i smanjenje omjera *Bacillota/Bacteroidota* (87).

U američkim ispitanicima, *Peptoniphilus*, *Corynebacterium* i *Campylobacter* bili su najzastupljeniji rodovi kod pacijenata s COVID-19 (66). Oboljeli hospitalizirani u jedinicama intenzivne njege imaju povećanje roda *Enterococcus*, te smanjenje porodice *Ruminococcaceae* i *Lachnospiraceae* (78).

Prema dosadašnjim saznanjima još nije moguće utvrditi je li promjena u sastavu crijevnne mikrobiote uzrok ili posljedica COVID-19.

Bakterije s dijagnostičkom vrijednošću kod COVID-19 jesu bakterije iz porodice *Lachnospiraceae* (*Fusicathenibacter*, *Roseburia*, *Eubacterium hallii*) i *Ruminococcaceae* (*Faecalibacterium prausnitzii* i *Ruminococcus*) te rodovi *Clostridium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Rothia*, *Actinomyces*, *Lactobacillus* i *Streptococcus*. Određene promjene u



sastavu crijevne mikrobiote mogu imati prognostičku ulogu u pacijenata jer su povezane s težim oblicima bolesti. Bakterijski rodovi sa značajnom prognostičkom vrijednošću jesu *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Roseburia* i *Bifidobacterium* (78,87). Rod *Coprobacillus* te vrste *Clostridium ramosum* i *Clostridium hathewayi* u jakoj su pozitivnoj korelaciji s težinom bolesti COVID-19, dok su vrste *Bifidobacterium bifidus*, *Alistipes onderdonkii* i *Faecalibacterium prausnitzii* u jakoj negativnoj korelaciji. Porodica *Erysipelotrichaceae* ima jaku pozitivnu korelaciju s težinom bolesti te je bakterija iz te porodice imala najveću pozitivnu korelaciju s količinom koronavirusa u fecesu (80).

U većini studija je dokazano značajnije smanjenje mikrobne raznolikosti i bogatstva kod ljudi s težim oblikom bolesti COVID-19. U manjem broju studija zabilježeno je nepostojanje značajnih razlika ili pak povećana mikrobna raznolikost i mikrobno bogatstvo u zaraženih ljudi u usporedbi sa zdravim kontrolama. To je moguće posljedica velike heterogenosti unutar grupe oboljelih, odnosno zbog razlike u dobi, kroničnim bolestima, tijeku liječenja, hospitalizaciji i uzimanju antibiotika (64,83). Smanjenje mikrobne raznolikosti kod COVID-19 bilo je prisutno, neovisno o upotrebi antibiotika (88). Pacijenti s COVID-19 liječeni sa i bez antibiotika imaju drugačiji sastav crijevne mikrobiote. Antibiotici oslabljuju sintezu antivirskog interferona tipa I od strane crijevnih komenzala. Smatra se da antibiotici neće poboljšati ishode liječenja pacijenata bez bakterijskih koinfekcija, već će pogoršati i produljiti disbiozu crijeva u ovoj populaciji pacijenata (66).

Tablica 1. Pregled istraživanja u kojima je uspoređena brojnost taksa bakterija crijevne mikrobiote kod osoba oboljelih od COVID-19 u usporedbi sa zdravim kontrolama

Istraživanja	Taksa							
	Koljeno		Porodica		Rod		Vrsta	
	↗ Rast brojnosti pojedinih koljena kod COVID-19	↘ Pad brojnosti pojedinih koljena kod COVID-19	↗ Rast brojnosti pojedinih porodica kod COVID-19	↘ Pad brojnosti pojedinih porodica kod COVID-19	↗ Rast brojnosti pojedinih rodova kod COVID-19	↘ Pad brojnosti pojedinih rodova kod COVID-19	↗ Rast brojnosti pojedinih vrsta kod COVID-19	↘ Pad brojnosti pojedinih vrsta kod COVID-19
Gu et al. (2020) (89)				<i>Ruminococcaceae</i> <i>Lachnospiraceae</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Rothia</i> <i>Veillonella</i> <i>Erysipelatoclostridium</i> <i>Actinomyces</i>	<i>Romboutsia</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Fusicatenibacter</i> <i>Agathobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Dorea</i> <i>Anaerostipes</i> <i>Intestinibacter</i> <i>Turicibacter</i> <i>Roseburia</i>		<i>E. halli</i> <i>R. torques</i>
Tao et al. (2020) (90)		<i>Bacteroidota</i>			<i>Escherichia</i> <i>Streptococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Veillonella</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i>	<i>Roseburia</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Coprococcus</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Sutterella</i> <i>Parabacteroides</i>		
Zuo et al. (2020a) (91)				Grupa na antibiotiku: <i>Lachnospiraceae</i>			Grupa bez antibiotika: <i>C. hathewayi</i> <i>A. viscosus</i> <i>B. nordii</i>	Grupa na antibiotiku: <i>F. prausnitzii</i> <i>E. rectale</i> <i>R. obeum</i> <i>D. formicigenerans</i>

Zuo et al. (2020b) (92)							<i>Candida albicans</i> <i>Candida auris</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i>		
Tang et al. (2020) (93)				<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Bacteroides</i>		<i>F. prausnitzii</i> <i>C. butyricum</i> <i>C. leptum</i> <i>E. rectale</i>	
Al Bataineh et al. (2021) (94)					<i>Blautia</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Intestinibacter</i> <i>Enterorhabdus</i> <i>Anaerostipes</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i>			
Gaibani et al. (2021) (95)			<i>Enterococcaceae</i> <i>Coriobacteriaceae</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Veillonellaceae</i> <i>Porphyromonadaceae</i> <i>Staphylococcaceae</i>	<i>Bacteroidaceae</i> <i>Lachnospiraceae</i> <i>Ruminococcaceae</i> <i>Prevotellaceae</i> <i>Clostridiaceae</i>	<i>Enterococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Serratia</i> <i>Collinsella</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Parabacteroides</i> <i>Lactococcus</i> <i>Phascolarctobacterium</i> <i>Odoribacter</i> <i>Actinomyces</i> <i>Akkermansia</i>	<i>Prevotella</i> <i>Bacteroides</i> <i>Coprococcus</i> <i>Blautia</i> <i>Roseburia</i> <i>Lachnospira</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Oscillospira</i> <i>Anaerofilum</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. hirae</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. villorum</i>		
Moreira-Rosário et al. (2021) (96)	Teži simptomi: <i>Pseudomonadota</i>	Teži simptomi: Omjer <i>Bacillota</i> / <i>Bacteroidota</i>					Teži simptomi: <i>Roseburia</i> <i>Lachnospira</i>		
Khan et al. (2021) (97)	<i>Pseudomonadota</i> <i>Actinomycetota</i> <i>Bacteroidota</i>	<i>Bacillota</i>		<i>Lachnospiraceae</i> <i>Ruminococcaceae</i>		<i>Prevotella</i> <i>Roseburia</i>	<i>C. hathewayi</i> <i>P. distasonis</i> <i>R. gnavus</i>	<i>B. plebeius</i> <i>F. prausnitzii</i> <i>B. pullicaecorum</i> <i>C. ruminantium</i> <i>L. pectinoschiza</i> <i>P. xylanivorans</i>	

Kim (2021) et al. (98)					<i>Escherichia</i> <i>Citrobacter</i> <i>Collinsella</i> <i>Bifidobacterium</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Butyricimonas</i> <i>Odoribacter</i>		
Zuo et al. (2021a) (72)							Streptococcus fag Escherichia fag Lactococcus fag Ralstonia fag Solumvirus Homavirus Mikrocistis bakteriofag	
Li et al. (2021) (99)	<i>Bacteroidota</i>	<i>Bacillota</i>		<i>Coriobacteriaceae</i>		<i>Ruminococcus</i> <i>Adlercreutzia</i> <i>Dorea</i>	<i>B. stercoris</i> <i>B. vulgatus</i> <i>B. massiliensis</i> <i>B. longum</i> <i>S.thermophilus</i> <i>P. bivia</i>	<i>C. nexile</i> <i>S. salivarius</i> <i>C. catus</i> <i>E. hallii</i> <i>E. aerogenes</i> <i>A. equolifaciens</i>
Liu et al. (2021) (100)					<i>Tyzzereella</i> <i>Lachnoclostridium</i>			
Wu et al. (2021a) (101)		<i>Bacillota</i>		<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Enterococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Acinetobacter</i>	<i>Faecalibacterium</i> <i>Roseburia</i> <i>Gemmiger</i> <i>Clostridium XIVa</i> <i>Blautia</i> <i>Parabacteroides</i> <i>Dialister</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Fusicatenibacter</i> <i>Coprococcus</i> <i>Butyricicoccus</i> <i>Oscillibacter</i> <i>Dorea</i> <i>Clostridium XIVb</i> <i>Anaerostipes</i> <i>Bilophila</i> <i>Romboutsia</i> <i>Odoribacter</i> <i>Barnesiella</i>		

Wu et al. (2021b) (102)					<i>Streptococcus</i> <i>Weissella</i> <i>Enterococcus</i> <i>Rothia</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Actinomyces</i> <i>Granulicatella</i>	<i>Blautia</i> <i>Coprococcus</i> <i>Collinsella</i>	<i>C. citroniae</i> <i>B. longum</i> <i>R. mucilaginosa</i>	<i>B. caccae</i> <i>B. coprophilus</i> <i>B. obeum</i> <i>C. colinum</i>
Yeoh et al. (2021) (103)	<i>Bacteroidota</i>	<i>Actinomycetota</i>					<i>R. gnavus</i> <i>B. dorei</i> <i>R. torques</i> <i>B. vulgatus</i> <i>B. ovatus</i> <i>B. caccae</i> <i>S. parasanguinis</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>E. rectale</i> <i>R. bromii</i> <i>B. pseudocatenulatum</i> <i>F. prausnitzii</i> <i>C. aerofaciens</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>A. equolifaciens</i> <i>R. obeum</i>
He et al. (2021) (104)				<i>Lachnospiraceae</i> <i>Peptostreptococcaceae</i>		<i>Tyzzerella</i> <i>Blautia Eubacterium</i> <i>Butyrivibrio</i> <i>Lachnoclostridium</i> <i>Ruminococcus</i>	<i>B. uniformis</i> <i>B. graminisolvens</i> <i>B. coprophilus</i>	<i>R. gnavus</i>
Cao et al. (2021) (105)			<i>Inoviridae</i> <i>Microviridae</i> <i>Virgaviridae</i>		<i>Eggerthella</i> <i>Coprobacillus</i>	<i>Alistipes</i> <i>Parasutterella</i>	<i>R. gnavus</i> <i>C. ramosum</i> <i>E. lenta</i>	<i>R. intestinalis</i> <i>E. hallii</i> <i>C. fastidiosus</i> <i>E. eligens</i> <i>B. salyersiae</i> <i>O. splanchnicus</i> <i>A. shahii</i> <i>R. bromii</i> <i>B. massiliensis</i>
Lv et al. (2021a) (106)				<i>Ruminococcaceae</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Sphingomonas</i> <i>Rothia</i>	<i>Anaerostipes</i> <i>Fusicatenibacter</i> <i>Roseburia</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Aspergillus</i> <i>rugulosus</i> <i>Penicillium</i>	<i>Actinomyces</i> <i>odontolyticus</i> <i>S. parasanguinis</i>	<i>E. hallii</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Aspergillus</i> <i>penicillioide</i> <i>Aspergillus tritici</i>

Lv et al. (2021b) (107)						<i>Microscypha</i> <i>Emericellopsis</i> <i>Cystobasidium</i>		<i>Candida glabrata</i> <i>Candida parapsilosis</i>
Zuo et al. (2021b) (72)							Visoka viralana aktivnost u fecesu: <i>C. aerofaciens</i> <i>C. tanakaei</i> <i>S. infantis</i> <i>M. morgani</i>	Niska viralna aktivnost u fecesu: <i>P. merdae</i> <i>B. stercoris</i> <i>A. onderdonkii</i> ,
Hazan et al. (2022) (108)					<i>Bacteroides</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Roseburia</i>		<i>F. prausnitzii</i>
Maeda et al. (2022) (109)					<i>Enterococcus</i> <i>Finegoldia</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Eubacterium</i> <i>Coprobacillus</i> <i>Anaerotruncus</i> <i>Bulleidia</i> <i>Eggerthella</i> <i>Granulicatella</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Actinomyces</i> <i>Staphylococcus</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Blautia</i> <i>Coprococcus</i> <i>Megamonas</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Roseburia</i> <i>Clostridium</i> <i>Lachnospira</i> <i>Subdoligranulum</i> <i>Catenibacterium</i> <i>Dorea</i> <i>Dialister</i>		
Mizutani et al. (2022) (110)		<i>Bacillota</i>			<i>Bifidobacterium</i> <i>Bacteroides</i> <i>Parabacteroides</i> <i>Escherichia-Shigella</i>	<i>Faecalibacterium</i> <i>Subdoligranulum</i> <i>Dorea</i> <i>Enterobacter</i>		
Rafiqul et al. (2022) (111)					<i>Streptococcus</i> <i>Escherichia</i> <i>Enterococcus</i> <i>Bacteroides</i> <i>Bifidobacterium</i>	<i>Prevotella</i>		
Schult et al. (2022) (112)						<i>Coprococcus</i> <i>Roseburia</i>		

Sehli et al. (2022) (113)		<i>Bacteroidota</i>	<i>Lachnospiraceae</i>		<i>Escherichia/Shigella</i> <i>Succinivibrio</i> <i>Libanicoccus</i> <i>Citrobacter</i> <i>Rothia</i>			
Shen et al. (2022) (114)					<i>Enterococcus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Bacteroides</i>		
Xu et al. (2022) (115)	Actinomycetota				<i>Enterococcus</i> <i>Enterocloster</i> <i>Mediterraneibacter</i> <i>Blautia</i> <i>Streptococcus</i> <i>Anaerostipes</i> <i>Anaerobutyricum</i>	<i>Roseburia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Coprococcus</i> <i>Dialister</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. avium</i> <i>E. durans</i> <i>R. gnavus</i> <i>R. torques</i>	<i>L. eligens</i> <i>R. intestinalis</i>
Suskun et al. (2022) (116)							<i>B. adolescentis</i> <i>D. formicigenerasus</i> <i>E. dolichum</i> <i>E. lenta</i>	<i>F. prausnitzii</i>
Zhang et al. (2022) (117)							<i>B. ovatus</i> <i>B. dorei</i> <i>B. thetaiotaomicron</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>R. bromii</i> <i>F. prausnitzii</i>
Zhou et al. (2022) (118)					<i>Actinomyces</i>	<i>Prevotella</i>	<i>A. muciniphila</i> <i>S. odontolytica</i> <i>L. rhamnosus</i>	<i>P. copri</i> <i>A. putredinis</i> <i>B. vireti</i> <i>S. salivarius</i> <i>C. leptum</i> <i>D. formicigenerans</i> <i>B. fragilis</i> <i>B. intestinhominis</i> <i>P. stercorea</i> <i>P. merdae</i> <i>T. carboxydivorans</i>

### 3.3. Usporedba sastava crijevne mikrobiote ljudi koji su oporavili od COVID-19 i zdravih ispitanika

Disbioza perzistira i nakon što je došlo do ozdravljenja od COVID-19 (Tablica 2). Sustavni pregledni članak koji je uključio 27 istraživanja, navodi da je na razini porodice, u oporavljenih ljudi bio smanjen broj *Lachnospiraceae* (2/2 istraživanja). Na razini roda, u oporavljenih je ljudi bio povećani broj *Flavonifractor* (3/3 istraživanja), dok je smanjeni broj bio *Bifidobacterium* (2/2 istraživanja), *Dorea* (2/2 istraživanja), *Faecalibacterium* (2/2 istraživanja) i *Ruminococcus* (2/2 istraživanja). Na razini vrste, u oporavljenih je ljudi bio povećani broj *Clostridium bolteae* (2/2 istraživanja), a smanjen je broj bio kod *Collinsella aerofaciens* (2/2 istraživanja), *Faecalibacterium prausnitzii* (4/4 istraživanja) i *Ruminococcus bromii* (3/3 istraživanja) (64).



Tablica 2. Pregled istraživanja u kojima je uspoređena brojnost taksa bakterija crijevne mikrobiote kod osoba koji su se oporavili od COVID-19 s brojnosti kod zdravih kontrola

Istraživanja	Vrijeme nakon negativnog testa na COVID-19	Taksa					
		Porodica		Rod		Vrsta	
		↗ Rast brojnosti pojedinih porodica kod ozdravljenih od COVID-19	↘ Pad brojnosti pojedinih porodica kod ozdravljenih od COVID-19	↗ Rast brojnosti pojedinih rodova kod ozdravljenih od COVID-19	↘ Pad brojnosti pojedinih rodova kod ozdravljenih od COVID-19	↗ Rast brojnosti pojedinih vrsta kod ozdravljenih od COVID-19	↘ Pad brojnosti pojedinih vrsta kod ozdravljenih od COVID-19
Yeoh et al. (2021) (103)	1 mjesec					<i>B. dentium</i> <i>L. ruminis</i> <i>P. distasonis</i> <i>E. faecalis</i> <i>P. acnes</i> <i>A. minutum</i> <i>C. bolteae</i> <i>C. symbiosum</i> <i>V. parvula</i> <i>S. aureus</i>	<i>E. rectale</i> <i>R. bromii</i> <i>F. prausnitzii</i> <i>B. pseudocatenulatum</i> <i>C. aerofaciens</i> <i>B. longum</i> <i>R. obeum</i> <i>P. copri</i> <i>C. comes</i> <i>D. formicigenerans</i> <i>D. longicatena</i> <i>A. equolifaciens</i> <i>R. lactaris</i> <i>A. putredinis</i>
Ferreira-Junior et al. (2022) (119)	1 do 8 mjeseci			<i>Parabacteroides</i> <i>Bacteroides</i> <i>Alistipes</i> <i>Dysosmobacter</i> <i>Butyricimonas</i> <i>Bilophila</i> <i>Flavonifractor</i> <i>Barnesiella</i> <i>Anaerotignum</i> <i>Parasutterella</i> <i>Acidaminococcus</i>	<i>Dorea</i> <i>Streptococcus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Akkermansia</i>		
Tian et al. (2021) (120)	3 mjeseca	<i>Eubacteriaceae</i> <i>Micrococcaceae</i> <i>Microtrichaceae</i>	<i>Ruminococcaceae</i> <i>Coriobacteriaceae</i>	<i>Erysipelatoclostridium</i> <i>Flavonifractor</i> <i>Eubacterium</i>	<i>Faecalibacterium</i> <i>Collinsella</i>		<i>Eubacterium hallii</i>

				<i>Rothia</i>			
Zhou et al. (2021) (121)	3 mjeseca		<i>Lachnospiraceae</i> <i>Desulfovibrionaceae</i>	<i>Flavonifractor</i> <i>Escherichia</i> <i>Intestinibacter</i>	<i>Faecalibacterium</i> <i>Roseburia</i> <i>Fusicatenibacter</i> <i>Dorea</i> <i>Ruminococcus</i> <i>Clostridium XVIII</i> <i>Butyricoccus</i> <i>Romboutsia</i>  <i>Intestinimonas</i>  <i>Bilophila</i>	<i>I. bartlettii</i> <i>C. aldenense</i> <i>C. bolteae</i> <i>F. plautii</i> <i>C. ramosum</i>	<i>F. prausnitzii</i> <i>R. inulinivorans</i> <i>F. saccharivorans</i> <i>R. bromii</i> <i>B. faecis</i> <i>B. pullicaecorum</i> <i>I. butyriciproducens</i>
Liu et al. (2022) (122)	6 mjeseci				<i>Ruminococcus</i> <i>Bifidobacterium</i>	Dugi COVID-19: <i>R. gnavus</i> <i>B. vulgatus</i>	Dugi COVID-19: <i>C. aerofaciens</i> <i>F. prausnitzii</i> <i>B. obeum</i>
Maeda et al. (2022) (109)	6 mjeseci		<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Lactobacillus</i>			

### 3.4. Usporedba sastava crijevne mikrobiote oboljelih od dugog COVID-19 i zdravih ispitanika

Pacijenti sa sindromom post COVID-19, šest mjeseci nakon zaraze, imaju snižene razine bakterijskih vrsta *Collinsella aerofaciens*, *Faecalibacterium prausnitzii* i *Blautia obeum*, a povećane razine *Ruminococcus gnavus* i *Bacteroides vulgatus* u odnosu na osobe koje nisu oboljele od COVID-19(123). Patogene vrste *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus vestibularis*, *Streptococcus gordonii* i *Clostridium disporicum* su u korelaciji s dugotrajnim simptomima dišnog sustava. Mikrobne vrste *Clostridium innocuum* i *Actinomyces naeslundii* su u korelaciji s neuropsihijatrijskim simptomima dugog COVID-19. Blagotvorne bakterijske vrste *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia inulinivorans* i *Roseburia hominis* su u najjačoj negativnoj korelaciji sa simptomima dugog COVID-19 (75).

Mikrobna raznolikost i bogatstvo ostaju sniženi te sastav crijevne mikrobiote ostaje drugačiji u usporedbi sa sastavom mikrobiote zdravih osoba, čak i nakon oporavka od COVID-19. Premda, valja napomenuti da je njihov sastav crijevne mikrobiote u fazi oporavka sličniji mikrobioti zdravih ljudi, nego što je bio u akutnoj fazi zaraze. Dostupna istraživanja pokazuju da se mikrobno bogatstvo nije vratilo na normalnu razinu čak ni nakon 6 mjeseci od zaraze. Osobe koje su razvili dugi COVID-19, nastavili su imati manju raznolikost i bogatstvo crijevne mikrobiote. Štoviše, imali su sniženu mikrobnu raznolikost i bogatstvo već prije ili u trenutku zaraze, što ukazuje na potencijalnu upotrebu analize sastava crijevne mikrobiote za određivanje rizika od razvoja dugog COVID-19 nakon oporavka od akutne bolesti (64).

### **3.5. Istraživanja s probioticima, prebioticima i fekalnom transplantacijom mikrobiote kod oboljelih od COVID-19**

Dokazano je da probiotici utječu na diferencijaciju i proliferaciju podtipova T limfocita i stimuliraju proizvodnju antimikrobnih peptida u Panethovim stanicama. Određeni probiotici imaju antivirusni učinak na prijašnje poznate vrste koronavirusa. Bakterije iz roda *Paenibacillus* prirodno proizvode karboksipeptidaze koje su strukturno i funkcionalno vrlo slične ACE-2 (124).

Probiotici dokazano smanjuju rizik od pojave respiratornih infekcija, skraćuju trajanje bolesti i smanjuju težinu simptoma. Spomenuti blagotvorni utjecaji su dosljedni kod različitih kombinacija sojeva, različitih doza i različitih trajanja suplementacije. Skraćenje trajanja respiratorne infekcije je značajnije kada je probiotik ukomponiran u fermentiranom mliječnom proizvodu kao njegovom prirodnom matriksu. Korisni učinak probiotika na smanjenje respiratornih infekcija nije dokazan kod ljudi koji su tjelesno jako aktivni (125).

U opservacijskoj studiji, COVID-19 pacijenti uz antibiotsku terapiju dobivali su 14 dana probiotsku formulaciju koja je sadržavala: *S. thermophilus* DSM 32345, *L. acidophilus* DSM 32241, *L. helveticus* DSM 32242, *L. paracasei* DSM 32243, *L. plantarum* DSM 32244, *L. brevis* DSM 27961, *B. lactis* DSM 32246, *B. lactis* DSM 32247 u dozi od  $240 \times 10^{10}$  živih bakterija dnevno. Unutar 72 sata gotovo svi pacijenti liječeni kombinacijom antibiotika i probiotika pokazali su remisiju proljeva i vrućice, u usporedbi s manje od polovice skupine koja je dobila samo antibiotik. Rizik od zatajenja disanja bio je 8 puta manji u pacijenata koji su dobili i probiotik. Prevalencija pacijenata zaprimljenih na intenzivnoj jedinici i mortalitet bili su veći među pacijentima koji nisu dobivali probiotik. Probiotska formulacija je pokazala značajan blagotvoran učinak na klinički sliku ispitanika oboljelih od COVID-19 (126).

U opservacijskoj studiji istražio se utjecaj suplementacije probiotikom na kliničke ishode blagog oblika COVID-19. Probiotska formulacija sadržavala je pet sporogenih sojeva roda

*Bacillus* (*Bacillus indicus* HU36, *Bacillus subtilis* HU58, *Bacillus coagulans* SC208, *Bacillus licheniformis* SL307 i *Bacillus clausii* SC109). Ispitivana grupa uključivala je odrasle bolesnike koji su uzimali probiotik ( $\geq 1$  mjeseca) u dozi od  $4 \times 10^9$  živih bakterija jednom dnevno uz popodnevni obrok. Kontrolna grupa nije uzimala probiotik. Probiotska formulacija je imala učinak na trajanje simptoma kod odraslih s blagim oblikom COVID-19. U probiotskoj skupini simptomi su trajali kraće vrijeme (6,63 dana naspram 8,48 dana kod kontrolne skupine bez probiotika), uključujući i kraće vrijeme trajanja temperature (1,48 dana naspram 2,67 dana), te je manji broj ispitanika razvio probavne tegobe. Studija sugerira da redovito uzimanje probiotske formulacije na bazi spora prije i tijekom infekcije SARS-CoV-2 pozitivno utječe na ozdravljenje od COVID-19 (127).

U opservacijskoj studiji na odraslim pacijentima s COVID-19 ispitana je probiotska formulacija s rodovima *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* i *Enterococcus* u dnevnoj dozi od 3 kapsule. Svaka kapsula je sadržavala  $1 \times 10^7$  živih bakterija svakog od tri roda. Trajanje oralne primjene probiotika i standardnog liječenja definirano je kao vrijeme od početka primjene probiotika do negativnog testa na virus. Upotreba probiotika bila je povezana s kraćim trajanjem simptoma, uključujući i kraće trajanje vrućice, kraćim trajanjem hospitalizacije i bržim nestankom virusa u usporedbi s grupom koja nije uzimala probiotik već je samo dobivala standardnu terapiju (128).

U opservacijskoj studiji, jedna tableta probiotske formulacije je sadržavala najmanje  $5 \times 10^6$  živih bakterija *Bifidobacterium longum* uz najmanje  $5 \times 10^5$  živih bakterija *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Pacijenti su dobivali 4 tablete odjednom, 3 puta dnevno. Probiotici mogu biti adjuvantna terapija u liječenju teže oboljelih ljudi od COVID-19 s dijarejom te se preporučuje njihova rana primjena. Davanje probiotika pacijentima s teškim oblikom COVID-19 značajno je smanjilo trajanje dijareje i poboljšalo je njihovo nutritivno stanje u usporedbi s kontrolama. Vrijeme do postizanja negativnog testa na COVID-19 bilo je

znatno kraće, a razina markera upale C-reaktivnog proteina (CRP) bila je značajno niža nego u kontrolnoj skupini. Ovi rezultati ujedno sugeriraju da davanje probiotika pacijentima s teškim oblikom bolesti COVID-19 s proljevom, može učinkovito smanjiti upalnu reakciju (129).

U sklopu randomizirane kliničke studije, ispitanici oboljeli od COVID-19 su dobivali probiotsku formualciju sastavljenu od *Lactiplantibacillus plantarum* KABP022, KABP023 i KAPB033, *Pediococcus acidilactici* KABP021 u dozi od  $2 \times 10^9$  živih bakterija tijekom 30 dana. Potpunu remisiju postiglo je 53,1 % ispitanika u interventnoj skupini u usporedbi s 28,1% u kontrolnoj skupini. Probiotik se dobro podnosio. U interventnoj studiji došlo je do značajnog smanjenja virusnog opterećenje u nosnoj šupljini, do smanjenja broja upalnih infiltrata u plućima i do skraćivanja trajanja probavnih tegoba u usporedbi s kontrolnom skupinom koja je dobivala placebo. Probiotik nije uzrokovao značajnu razliku u sastavu crijevne mikrobiote između intervencijske skupine i kontrolne skupine, ali je povećao broj specifičnih imunoglobulina IgM i IgG na SARS-CoV2. Stoga se pretpostavlja da je gore navedena formulacija probiotskih bakterija djelovala ulaskom u interakcije s imunskim stanicama domaćina, a ne mijenjanjem sastava crijevne mikrobiote (130).

Provedena je randomizirana klinička studija s probiotskim sojem *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG (LGG) kao postekspozicijskom profilaksom za COVID-19 u ispitanika koji su u kućanstvu bili izloženi osobi s potvrđenim COVID-19 unutar 7 dana. Ispitanici su uzimali LGG ili placebo jednom dnevno tijekom 28 dana (dob < 5 godina: jedna kapsula dnevno, dob  $\geq$  5 godina: dvije kapsule dnevno). LGG kapsule sadržavale su  $1 \times 10^9$  milijardi živih bakterija *L. rhamnosus* GG ATCC 53103. Pratio se razvoj simptoma bolesti unutar 28 dana od izlaganja virusu. Prikupljena je stolica za analizu sastava crijevne mikrobiote. LGG se dobro podnosio. Intervencija LGG-om smanjila je vjerojatnost pojave simptoma bolesti u odnosu na placebo (26,4 % naspram 42,9 %), produljila vrijeme do razvoja infekcije COVID-19 i promijenila sastav crijevne mikrobiote. Ispitanici koji su uzimali LGG imali su značajno veću zastupljenost *L. rhamnosus*

u usporedbi s kontrolnim ispitanicima. Međutim, nije bilo razlike u incidenciji bolesti između intervencijske i kontrolne skupine (131).

Randomizirana klinička studija je ispitala učinkovitost probiotske formulacije s *Lactocaseibacillus rhamnosus* PDV 1705, *Bifidobacterium bifidum* PDV 0903, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* PDV 1911 i *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* PDV 2301 u liječenju hospitaliziranih pacijenata s COVID-19 od 18 do 75 godina. Intervencija s probiotikom je trajala 14 dana. Dnevna doza sadržavala je  $1 \times 10^9$  živih bakterija svakog pojedinog soja. Nije bilo razlike u mortalitetu, trajanju bolesti ni trajanju hospitalizacije, incidenciji prijema u jedinicu intenzivne njege, potrebi za mehaničkom ventilacijom, razvoju oštećenja jetre i promjenama u razinama upalnih biomarkera između intervencijske i kontrolne skupine. Značajna je razlika dokazana samo u trajanju proljeva. Proljev pri prijemu u bolnici trajao je kraće u interventnoj skupini nego u kontrolnoj (2 naprama 4 dana). Jatrogeni proljev bio je rjeđi u ispitanika koji su primali jedan antibiotik iz interventne skupine, nego u ispitanika koji su primali jedan antibiotik bez probiotika (0 % naspram 12,5 %). Nije bilo razlike u incidenciji jatrogenog proljeva kod pacijenata s više od jednog antibiotika. Iz studije se može zaključiti da je ispitanik probiotik bio učinkovit u liječenju proljeva povezanog s COVID-19 i u prevenciji jatrogenog proljeva kod pacijenata koji su primili samo jedan antibiotik (132).

Randomizirana klinička studija provedena na osobama starijim od 65 godina i na osobama s dijabetesom tipa 2 unutar jednog tjedna od prve doze cjepiva protiv COVID-19. Ispitana je učinkovitost sinbiotika tijekom pandemije COVID-19. Sinbiotik je smjesa probiotika i prebiotika. Preparat je sadržavao vrste *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bididum* i *Bifidobacterium longum* u dozi od  $2 \times 10^{10}$  živih bakterija dnevno zajedno s prebioticima galaktooligosaharidi, ksilooligosaharidi i otpornim dekstrinom. Interventna skupina ga je uzimala 3 mjeseca. Stopa štetnih zdravstvenih ishoda bila je značajno niža u interventnoj skupini. Ispitanici u interventnoj skupini su imali bolju kvalitetu sna (53 ispitanika naspram 22

ispitanika iz kontrolne skupine), bolje stanje kože (18 naspram 8) i bolje raspoloženje (27 naspram 13). Interventna skupina je imala promjenu u sastavu crijevne mikrobiote u vidu povećanja brojnosti roda *Bifidobacterium* i povećanja brojnosti butirat sintetizirajućih bakterija (133).

Transplantacija fekalne mikrobiote (TFM) je terapija prilikom kojom se transplantira infuzija bakterija iz fecesa (točnije infuzija tekućeg filtrata fecesa) zdravog donora u crijevo bolesnog primatelja kako bi se optimizirao sastav crijevne mikrobiote koji je kod bolesnika narušen. Transplantacije se mogu vršiti oralno; putem nazogastrične sonde ili nazoduodenalne sonde kada se želi nastaniti gornji dio probavnog trakta primatelja ili pak kolonoskopski kada se želi nastaniti donji dio probavnog sustava primatelja. TFM se smatra učinkovitijom od probiotika *per os* u promjeni sastava crijevne mikrobiote jer nadilazi urođeni kvantitativni nesrazmjer između probiotika koji se primjenjuju u količini  $10^9$  i  $10^{10}$  reda stanica i autohtone mikrobiote u količini  $10^{13}$  i  $10^{14}$  reda stanica. Štoviše, TFM omogućava značajno dugotrajniju promjenu u sastavu crijevne mikrobiote domaćina u usporedbi s probioticima *per os* (2). Istražena je učinkovitost TFM na gastrointestinalne simptome, crijevnu disbiozu i imunostatus 11 osoba, mjesec dana nakon hospitalizacije zbog COVID-19. Na svim je ispitanicima provedena transplantacija fekalne mikrobiote od jedinstvenog donora. Ispitanici su 4 dana u nizu oralno dobivali 10 kapsula pročišćenog fekalnog transplantata donora. Nakon transplantacije došlo je do smanjenja gastrointestinalnih simptoma kod ljudi koji su patili od tih tegoba. Smanjio se broj naivnih B limfocita, a povećao broj memorijskih B limfocita. Sastav crijevne mikrobiote ispitanika nakon otpuštanja iz bolnice razlikovao se od crijevne mikrobiote zdravih ljudi. Imali su sniženi udio koljena *Bacillota* i *Actinomycetota*, a povećani udio koljena *Bacteroidota* i *Pseudomonadota*. Nakon transplantacije fekalne mikrobiote smanjila se crijevna disbioza. Povećao se udio *Actinomycetota*, a smanjio udio *Pseudomonadota*. Na razini rodova, značajno su se povećali *Bifidobacterium* i *Faecalibacterium*. Transplantacijom potaknute promjene u



podtipovima perifernih limfocita, promjene u sastavu crijevne mikrobiote i smanjenju gastrointestinalnih tegoba, daju naslutiti da TFM može poslužiti kao potencijalna terapijska i rehabilitacijska intervencija kod COVID-19 (134).

### **3.6. Interventna istraživanja mikronutricije kod oboljelih od COVID-19 i dugog COVID-19**

U tijeku je nekoliko kliničkih istraživanja suplementacije vitaminom D (n = 21), vitaminom C (n = 15), cinkom (n = 15) i selenom (n = 1). Čekaju se rezultati ovih studija kako bi se bolje razumio odnos između mikronutrijenata i COVID-19 (135). Intravenozna suplementacija visokom dozom vitamina C (>24 g/dL) kod COVID-19 bolesnika smanjuje osjetljivost na bakterijske respiratorne infekcije. Askorbinska kiselina može blago inhibirati ekspresiju ACE-2 u alveolarnim epitelnim stanicama. Fitopreparat s vitaminom B12, vitaminom D i magnezijem, smanjio je težinu tegoba, potrebu za mehaničkom ventilacijom i hospitalizaciju u intenzivnoj jedinici kod starijih osoba s COVID-19. Fitopreparat s hidroksitirozolum, L-karnitinom, vitaminima B, vitaminom C i vitaminom D tijekom 15 dana je smanjio kronični umor kod ljudi s dugim COVID-19. Ispitanici su naveli udvostručenje razine energije. Suplementacija visokom dozom cinka kod COVID-19 poboljšala je oksigenaciju krvi i snizila temperaturu 24 sata nakon intervencije. Predlaže se testiranje adjuvantne suplementacije postbiotikom butiratom zbog njegovog imunoregulacijskog učinka s ciljem sprječavanja citokinske oluje i višeorganskog zatajenja. Postbiotik je izolirani metabolit nastao kontroliranom fermentacijom probiotika koji doprinosi zdravlju ljudi neposrednim učinkom na funkciju mikrobiote. Prednost postbiotika je sigurnost jer se izbjegava direktan unos živih mikroorganizama i smjese mikroorganizama koje potencijalno mogu sadržavati nepoznate patogene i tako uzrokovati infekciju. Suplementacija vitaminom D kod hospitaliziranih bolesnika COVID-19 uzrokovala je smanjenje razine fibrinogena u krvi, smanjenje

komorbiditeta i trajanje boravka u bolnici (136). Oralni unos jedne visoke doze vitamina D u oboljelih od COVID-19 je smanjio težinu simptoma i povećao stopu preživljavanja. Intervencija kvercetinom u oboljelih od COVID-19, snizila je upalne markere feritin i laktat dehidrogenazu, smanjila je učestalost simptoma i ubrzalo se uklanjanje virusa iz organizma (137).

Hiponatrijemija je povezana s povećanom potrebom za mehaničkom ventilacijom kod COVID-19 pacijenata. Oboljeli od COVID-19 imaju nižu razinu kalija u krvi od pacijenata koji nisu oboljeli od COVID-19 zbog smanjene aktivnosti ACE-2 na koji je vezan virus pa gube značajnu količinu kalija kroz urin. Hipomagnezemija u hospitaliziranih COVID-19 pacijenata je povezana s većim mortalitetom od bolesti (136). Povećanje unosa elektrolita i vode može ublažiti umor u ljudi koji su razvili sindrom posturalne ortostatske tahikardije nakon zaraze SARS-CoV-2 (75).

### **3.7. Opažajna analitička istraživanja o prehrani kod oboljelih od COVID-19**

Prehrambene navike bi mogle imati važnu ulogu u infekciji COVID-19, težini simptoma i trajanju bolesti. U studiji s kohortom, uravnotežena prehrana bogata hranom biljnog podrijetla bila je povezana s manjim rizikom od infekcije i manjim rizikom od razvoja težeg oblika COVID-19. Ova potvrđena korisna povezanost uravnotežene prehrane bogate hranom biljnog podrijetla s manjim rizikom od COVID-19 osobito je važna za ljude koje žive u područjima niže socioekonomske situacije. Loša kvaliteta prehrane u kombinaciji s niskim socioekonomskim statusom ima veći negativni utjecaj na rizik od COVID-19 nego što bi se očekivalo samo zbrajanjem rizika svakog faktora zasebno. Ovi rezultati opravdavaju javnozdravstvene intervencije za poboljšanje prehrane i popravljavanje metaboličkog zdravlja kako bi se smanjio teret pandemije (138).

Nakon isključivanja utjecaja zbunjujućih varijabli u jednoj „case-control“ studiji, ispitanici koji su slijedili isključivo ili pretežito biljnu prehranu ili pescovegetarijansku prehranu imali su 73 % i 59 % manji rizik da razviju umjereni do teški oblik bolesti COVID-19, u usporedbi s ispitanicima koji nisu slijedili ove dijetete. Ispitanici na dijeti s niskim udjelom ugljikohidrata, a visokim udjelom proteina imali su veći rizik za razvoj umjerenog do teškog oblika COVID-19 u usporedbi s ljudima na biljnoj prehrani. Vegetarijanska i pescovegetarijanska prehrana su povezane s manjim rizikom od razvoja umjerenih do teških oblika COVID-19. Ova dva pretežito biljna prehrambena obrasca se mogu uzeti u obzir kao potencijalna dijetetska preventivna metoda od COVID-19 (139).

## **4. RASPRAVA**

### **4.1. Mehanizmi nastanka disbioze crijevne mikrobiote**

Sastav crijevne mikrobiote ljudi se značajno mijenja nakon zaraze SARS-CoV-2, vjerojatno zbog sistemske upale u tijelu domaćina. Mehanizmi nastanka disbioze su još uvijek nejasni te se istražuju. Sama crijevna mikrobiota može modulirati ekspresiju ACE-2 u crijevima. Za sada je poznato da interakcija ACE-2 receptora i SARS-CoV-2 ometa stvaranje antimikrobnih peptida defenzina. Naime, blokirani ACE-2 smanjuje funkciju transportera aminokiselina B0AT1 (SLC6A19) koji transportira triptofan u enterocit. Smatra se da upravo taj nedostatak triptofana u stanicama crijeva utječe na smanjenje proizvodnje defenzina. Tijekom infekcija dišnih puteva, povećanje lučenja proupalnog citokina TNF- $\alpha$  djeluje na hipotalamus i uzrokuje anoreksogeni učinak. Posljedično smanjenje unosa kalorija i vlakana mijenja sastav crijevne mikrobiote i crijevni metabolom što se ponajprije odražava na funkciju i učinkovitost stanica urođenog imuniteta (78). Razumijevanje mehanizama disbioze kod COVID-19 može pomoći u razvoju učinkovitih strategija za dijagnozu, prevenciju i liječenje COVID-19.

### **4.2. Nedostaci dosadašnjih istraživanja crijevne mikrobiote kod oboljelih od COVID-19**

Većina do sada provedenih istraživanja ima određene nedostatke koji onemogućuju izravnu usporedbu rezultata i donošenje jednoznačnih zaključaka. Primjerice, u nekima nije navedeno jesu li ispitanici koristili probiotike uz antibiotsku terapiju, niti su poznate prehrambene navike ispitanika, a ovi faktori, između ostalih, utječu značajno na sastav crijevne mikrobiote. Stoga buduća istraživanja trebaju isključiti utjecaj takvih zbunjujućih varijabli kako bi se dobili uvjerljiviji rezultati o razlikama u crijevnoj mikrobioti kod pacijenata s COVID-19 u odnosu na zdravu populaciju. Osim toga, dostupna istraživanja su vrlo heterogena po metodama

sekvencioniranja mikrobima i ostalim analitičkim metodama koje koriste. Većina istraživanja je provedena na azijskoj populaciji što bi moglo ograničiti ekstrapolaciju na drugim rasama zbog heterogenosti sastava crijevne mikrobiote kod različitih populacija ljudi, odnosno rasa (64).

### **4.3. Pogoršanje mentalnog zdravlja pacijenata kao posljedica COVID-19**

Mentalno zdravlje se globalno gledajući značajno poljuljalo nakon oporavka od COVID-19 pandemije. Nije poznato jesu li mentalni problemi posljedica same virusne infekcije, posljedica hospitalizacije, komorbiditeta dugog COVID-19 ili pak posljedica nemedicinskih stresora tijekom pandemije. Narušeno mentalno zdravlje može ujedno biti i uzrok i posljedica kroničnih probavnih tegoba nakon preboljele bolesti. Anksioznost i depresija su relativno česte nakon COVID-19, s učestalošću depresije od 4 % do 31 %, a anksioznosti 6 % do 63 % (140). Triptofan, esencijalna aminokiselina u ljudi, je prekursor koji ograničava brzinu sinteze serotonina (5-hidroksitriptamina, 5-HT). Crijevna mikrobiota metabolizira triptofan u kinurenin, a upravo je taj metabolizam triptofana značajka sistemskog upalnog odgovora, što se događa i kod COVID-19. Smanjena biosinteza triptofana od strane crijevne mikrobiote je povezana s težim simptomima sindroma iritabilnog kolona, kao i s poremećajima mentalnog zdravlja. Većina serotonina na periferiji stvara se u crijevnom epitelu (točnije u enterokromafinim stanicama) i pohranjuje se u trombocitima. Smatra se da bi koncentracije 5-HT u plazmi trebale odražavati lokalnu razinu ovog neurotransmitera u crijevnom epitelu. Koncentracija 5-HT u vrijeme akutnog COVID-19 bila je manja kod pacijenata koji su kasnije oboljeli od depresije ili tjeskobe povezane s COVID-19. Prospektivna studija je potvrdila smanjenje biosinteze triptofana od strane crijevne mikrobiote, smanjenje koncentracije serotonina u plazmi pacijenata tijekom akutnog COVID-19 i njihovu povezanost sa sindromom iritabilnog kolona 6 mjeseci nakon oboljenja (140). Međutim, potrebne su dodatne studije koje

bi razjasnile povezanost promjena u biosintezi i metabolizmu triptofana s razvojem iritabilnog kolona i mentalnih poremećaja kod pacijenata koji su preboljeli COVID-19. Kvalitetne longitudinalne studije mogle bi dodatno istražiti učinkovitost lijekova s modulatornim djelovanjem na serotoninški sustav u liječenju depresije, tjeskobe i sindroma iritabilnog kolona povezanih s COVID-19 (140).

#### **4.4. Utjecaj zatvaranja (*lockdown-a*) na sastav crijevne mikrobiote**

Osim same bolesti, socijalna izolacija također može utjecati na sastav crijevne mikrobiote i na mentalno zdravlje. U opservacijskoj studiji ispitanici (n=46) su prijavili značajno veće osobno nezadovoljstvo i tjeskobu te značajno niže pozitivno raspoloženje, pozitivne emocije i pozitivnu ekspresiju tijekom *lockdown-a* (141). Prema subjektivnoj percepciji stresa 51,6 % žena i 20 % muškaraca doživjelo je umjeren do jak stres. Subjektivni osjećaj je pratio promjene u razini kortizola u krvi. Razina kortizola je značajno porasla kod žena i bila je povezana s percipiranim stresom i tjeskobom. Potvrđene su također promjene u sastavu crijevne mikrobiote. Smanjila se  $\alpha$  raznolikost, a povećala se brojnost koljena *Pseudomonadota*. Depresija tijekom izolacije je u korelaciji s promjenama u brojnosti *Bacteroidota*, a u obrnutoj korelaciji s promjenama u brojnosti *Bacillota*. Brojnost roda *Alistipes* je u korelaciji s anksioznošću i negativnim afektom tijekom izolacije (141).

#### **4.5. Kontaminacija hrane i vode virusom**

Na osnovu istraživanja De Faria Coelho-Ravagnanija i suradnika, nema dokaza da su hrana ili pakiranja hrane povezani s prijenosom SARS-CoV-2 (135). Smatra se da se zbog lipidne ovojnice koronavirus lako razgrađuje u vodi i hrani i da se on ne bi tim putevima prenio na čovjeka. S druge strane, Moon tvrdi da virus ipak može direktno prijeći u vodoopskrbni sustav

i u sustav prerade hrane te oralnim putem dospjeti u gastrointestinalni trakt (142). Dojiljama se preporuča dojenje tijekom pandemije COVID-19, čak i onima koje su pozitivne na SARS-CoV-2. Pritom s naglaskom na provođenje higijenskih mjera, poput nošenja maske, pranja ruku prije i poslije dodirivanja djeteta te dezinfekcije radnih površina u domaćinstvu (135).

#### **4.6. Preporučena prehrana kod oboljelih od COVID-19**

Određene skupine ljudi su pod posebnim rizikom od oboljevanja i razvijanja težeg oblika COVID-19. To su osobe starije od 60 godina, osobe koje su vrlo malo tjelesno aktivne i osobe koje boluju od kroničnih nezaraznih bolesti uključujući dijabetes tip 2, bolesti srca i krvnih žila te pretili. Većina unutar ove populacije ima neoptimalnu prehranu i oslabljeni imunitet. Jedna od tri starije osobe u razvijenim zemljama ima nutritivni deficit zbog kroničnih bolesti, polifarmacije, siromaštva, jednolične prehrane, slabije apsorpcije nutritivnih tvari i drugih čimbenika, poput promjena u osjetilima. Nutritivni status čovjeka igra ključnu ulogu u očuvanju zdravlja, što je ponajprije povezano s pravovremenom aktivacijom imunskog sustava i lakšim prevladavanjem infekcije. Rizik od razvoja težeg oblika COVID-19 značajno se povećava u pothranjenih ljudi. Kod osoba zaraženih SARS-CoV-2, stanje uhranjenosti je presudan čimbenik za pozitivnu prognozu i može odrediti kliničku težinu bolesti COVID-19 (136). Asimptomatski pacijenti s COVID-19 imaju veću razinu mikronutrijenata i metabolita crijevne mikrobiote u tijelu nego pacijenti s težim oblikom bolesti. Pravilna prehrana je prva linija njege jer osigurava homeostazu mikronutrijenata u tijelu domaćina i osigurava homeostazu u metabolomu crijevne mikrobiote. Kada unos mikronutrijenata prehranom nije dostatan da pokriva povećane potrebe, nužna je suplementacija. Istraživanja naglašavaju važnost suplementacije mikronutrijentima kao adjuvantne terapije uz farmakoterapiju za prevenciju, smanjenje tegoba i ubrzavanje oporavka od COVID-19 i dugog COVID-19. Međutim, nedostaju kliničke studije za određivanje doze, ishoda i učinkovitosti korištenja (136). De Faria

Coelho-Ravagnani i suradnici su u preglednom članku saželi postojeće prehrambene smjernice nacionalnih i međunarodnih agencija za prehranu kod COVID-19 za korištenje nutricionistima i drugim zdravstvenim djelatnicima prilikom savjetovanja pacijenata (135).

Preporuča se svakodnevno jesti barem dva serviranja voća (jedno serviranje 150 grama jestivog dijela svježeg voća ili 30 grama suhog voća) i barem dva serviranja povrća (1 serviranje je 200 grama kuhanog i sirovog povrća ili 80 grama listova salate), s preporukom da ukupni unos voća i povrća bude veći od 500 grama. Prehrana bogata voćem i povrćem odličan je izvor mikronutrijenata imunomodulatora. Također, voće i povrće je bogato vodom, polifenolima i vlaknima, koji su ključni u kontroli hipertenzije, dijabetesa i debljanja - jednih od najvažnijih faktora rizika za razvoj težih oblika COVID-19. Mikronutrijenti doprinose funkciji urođenog i stečenog imunskog sustava. Vitamin A, vitamin C, vitamin D, vitamin E, vitamin B6 i vitamin B12 te cink neophodni su za održavanje strukturalnog i funkcionalnog integriteta fizičkih barijera u tijelu (kože, gastrointestinalne sluznice i sluznice dišnog trakta). Potiču također diferencijaciju, proliferaciju, migraciju i funkciju stanica urođenog imuniteta, kao i stečenog imuniteta. Imaju neposredno antimikrobno djelovanje te reguliraju upalni odgovor. Antioksidansi vitamin C, vitamin E, bakar, cink i selen, štite stanice od oštećenja slobodnim radikalima tijekom povećanog oksidativnog stresa tijekom bolesti (135).

Preporučuje se, u određenoj mjeri, zamjena soli s biljnim začinima tijekom pripreme hrane, kao i smanjenje unosa zaslađenih pića koje valja zamijeniti s običnom vodom. Također se preporučaju smanjenje unosa mesnih prerađevina kako bi se smanjio unos ne samo soli, već i zasićenih masti, a među mastima u prehrani prednost treba dati maslinovom ulju i masnim ribama – izvorima nezasićenih masti. Zasićene masne kiseline kojima obiluje hrana životinjskog podrijetla djeluju na Toll-like receptor 4 (TLR4) koji veže bakterijski lipopolisaharid čime se potiče urođeni imunski upalni odgovor. Stoga visok unos zasićenih masnih kiselina doprinosi kroničnoj upali niskog stupnja. S druge strane, mononezasićene i



polinezasićene masne kiseline imaju blagotvorni imunomodulatorni učinak. Omega-3 polinezasićene masne kiseline prisutne u ribama i plodovima mora, uljima algi, račića krila i sjemenkama lana aktiviraju stanice i urođenog i stečenog imunološkog sustava. Mononezasićene masne kiseline omega-9 koje se nalaze u maslinovom ulju i orašastim plodovima (posebno lješnjacima) imaju antioksidativnu i antimikrobnu aktivnost. Za odrasle muškarce i odrasle žene koje nisu trudne i ne doje, preporučena dnevna doza dugolančanih omega-3 polinezasićenih masnih kiselina (eikosapentaenska kiselina i dokozaheksaenska kiselina) je 250 mg. Ova se preporuka može ispuniti s 2 serviranja (90 g svaki) masne morske ribe, poput srdele, inćuna, papalina, skuše, lososa, bakalara, igluna, haringe i tune (135).

Premda je jedan sustavni pregledni članak predložio suplementaciju omega-3 masnim kiselinama te mikronutrijentima selenom, cinkom, željezom i odabranim vitaminima kao adjuvantnu terapiju kod liječenja COVID-19 i preventivnu terapiju od upale pluća (143), prema dosadašnjim saznanjima ne postoje pripravci tj. dodaci prehrani specifični za prevenciju COVID-19. Starije osobe su u riziku od manjka cinka, što povećava osjetljivost na infekcije kao što je upala pluća. Dodatak cinka (30 mg/dan) mogao bi biti prikladan za poboljšanje imunosne funkcije i smanjenje rizika od infekcija u ovoj skupini ljudi. Dnevna doza vitamina C veća od 1 grama ne smanjuje učestalost prehlade u općoj populaciji, jedino smanjuje trajanje prehlade za 8 % do 18 %. Međutim, vitamin C se dokazao korisnim za prevenciju prehlade kod osoba izloženih razdobljima intenzivne tjelesne aktivnosti ili niskim temperaturama (135). Jedan važan imunomodulator je vitamin D. Izlaganje sunčevoj svjetlosti 15 do 30 minuta dnevno može povećati razinu vitamina D u serumu u istoj mjeri kao i oralna doza od 250 do 625 µg. Međutim, u područjima sjevernijim od 40° geografske širine i južnijima od 40° geografske širine, ultraljubičasto B zračenje je smanjeno tijekom zime. Stoga se u periodu zime preporuča povećati unos hrane bogate vitaminom D i uvesti suplementaciju vitaminom D kako bi se održale njegove odgovarajuće razine u krvi (135).

#### 4.7. Potencijalni blagotvorni učinak mediteranske prehrane na oboljele od COVID-19

Mediteranska prehrana modulira sastav crijevne mikrobiote i djeluje imunomodulatorno povećavajuću raznolikost i sintezu blagotvornih metabolita od strane crijevne mikrobiote (144). Mediteranska prehrana povećava brojnost proizvođača butirata (npr. *Agathobaculum butyriciproducens*, *Anaerostipes hadrus*, *Faecalibacterium prausnitzii*) i bakterija s protuupalnim djelovanjem (npr. *Faecalibacterium prausnitzii*, rodovi *Roseburia* i *Lachnospiraceae*) (77). Meta-analiza randomiziranih kontrolnih studija o učinku raznovrsnih prehrambenih obrazaca na upalne markere dokazala je da mediteranska prehrana najjače smanjuje upalne markere citokine IL-6, IL-1 $\beta$  i CRP. Randomizirane kontrolne studije s mediteranskom prehranom trajale su od 4 tjedna do 5 godina te su uključivale različite populacije: zdrave starije osobe, muškarce oboljele od raka prostate, osobe oboljele od bolesti srca i krvnih žila, osobe oboljele od dijabetesa tipa 2 i osobe oboljele od osteoartritisa. Veganska, vegetarijanska i DASH (engl. *Dietary Approaches to Stop Hypertension*) prehrana u meta-analizi nisu pokazale učinak na smanjenje upalnih markera (145).

Patofiziologija COVID-19 povezana je s povećanom razinom trombocit-aktivirajućeg faktora koji značajno doprinosi upali i trombozi. Mediteranska prehrana bogata je protuupalnim inhibitorima trombocit-aktivirajućeg faktora. Stoga se pretpostavlja da protuupalna mediteranska prehrana može imati zaštitni učinak od COVID-19 putem modulacije, točnije inhibicije ovog markera upale i tromboze (144). U tijeku su klinička istraživanja o učincima biljnih tvari i prehrane s protuupalnim djelovanjem u osoba s post COVID-19 sindromom (135).

## 5. ZAKLJUČAK

Brojna istraživanja od pojave pandemije pokazuju da kod osoba zaraženih SARS-CoV-2 virusom dolazi do promjena u crijevnom mikrobiomu. Dokazano je smanjenje mikrobne raznolikosti i mikrobnog bogatstva, kao i promjene u sastavu crijevne mikrobiote u obliku gubitka korisnih bakterija i povećanja brojnosti patogenih bakterija. Osim kod akutne COVID-19 bolesti, razlike se nalaze i kod osoba koje su se oporavile od COVID-19 u usporedbi sa zdravim kontrolama. Te promjene bi mogle izazvati kronične upalne reakcije, promjene imunskog sustava i sekundarne bakterijske infekcije. Razlike u sastavu crijevne mikrobiote između nezaraženih ljudi i zaraženih i dalje su postojane, čak i 6 mjeseci nakon oporavka od COVID-19.

Promjena u sastavu crijevne mikrobiote kod oboljelih od COVID-19 može poslužiti kao marker težine bolesti i rizika od razvoja dugotrajnih posljedica. Za utvrđivanje odražavaju li te promjene uzrok ili posljedicu, potrebo je pričekati daljnja istraživanja. Potrebne su longitudinalne studije kako bi se istražile razlike u sastavu crijevne mikrobiote kod pacijenata prije infekcije i tijekom infekcije, zatim se stratificirale prema težini bolesti, uz praćenje sve do oporavka ili do razvoja simptoma dugog COVID-19. Važno je odrediti sastav crijevne mikrobiote prije infekcije koji bi mogao biti predisponirajući čimbenik obolijevanja od COVID-19, kao i sastav crijevne mikrobiote koji bi mogao imati protektivnu ulogu.

Preporuča se prehrana koja se pretežno temelji na voću i povrću, cjelovitim žitaricama, nemasnim fermentiranim mliječnim proizvodima i protuupalnim mastima (maslinovo ulje i riblje ulje). Preporuča se ograničiti unos zaslađenih pića i visokoenergetske prerađene hrane bogate sa soli. Cink, selen, željezo, vitamin C i D se preporuča davati osobama s respiratornim virusnim infekcijama, onima s povećanim rizikom od respiratornih virusnih infekcija i kada je

potvrđen nedostatak vitamina i/ili minerala. Dojenje treba poticati, čak i kod žena s dijagnosticiranim COVID-19.

Terapijska intervencija na mikrobiotu putem probiotika, prebiotika i fekalne transplantacije nedvojbeno je jedna od obećavajućih strategija za liječenje COVID-19 u budućnosti, ali neophodne su opsežne studije o djelotvornosti intervencije i odgovarajuće smjernice za liječenje temeljene na dokazima.

## 6. LITERATURA

1. Flint HJ. Micro-organisms and the microbiome. U: Why gut microbes matter understanding our microbiome. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. str. 1–8.
2. Marangoni F, Poli A. Microbiota Intestinale, Probiotici e Salute Umana. U: Fatati G, Amerio ML, urednici. Dietetica e nutrizione Clinica e organizzazione. 3. izd. Roma: Il Pensiero Scientifico Editore; 2018. str. 19–30.
3. Flint HJ. Variability and stability of the human gut microbiome. U: Why gut microbes matter understanding our microbiome. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. str. 63–80.
4. Flint HJ. Who inhabits our gut? Introducing the human gut microbiota. U: Why gut microbes matter understanding our microbiome. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. str. 47–62.
5. Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell*. 2016;164(3):337–40.
6. Reyes A, Haynes M, Hanson N, Angly FE, Heath AC, Rohwer F, et al. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature*. 2010;466(7304):334–8.
7. Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med*. 2018;24(4):392–400.
8. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017;474(11):1823–36.
9. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol*. 2016;14(8):e1002533.
10. Geng J, Ni Q, Sun W, Li L, Feng X. The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases. *Biomed Pharmacother*. 2022;147:112678.
11. Riedl RA, Burnett CML, Pearson NA, Reho JJ, Mokadem M, Edwards RA, et al. Gut microbiota represent a major thermogenic biomass. *Function*. 2021;2(3):zqab019.

12. National Institute of Health. NIH human microbiome project defines normal bacterial makeup of the body. 2012. Dostupno na <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-human-microbiome-project-defines-normal-bacterial-makeup-body>.  
Pristupljeno: 22. ožujka 2024.
13. Tierney BT, Yang Z, Lubber JM, Beaudin M, Wibowo MC, Baek C, et al. The landscape of genetic content in the gut and oral human microbiome. *Cell Host Microbe*. 2019;26(2):283-295.e8.
14. Rosenwald AG, Arora GS, Madupu R, Roecklein-Canfield J, Russell JS. The Human Microbiome Project: an opportunity to engage undergraduates in research. *Procedia Comput Sci*. 2012;9:540–9.
15. Bown RL, Gibson JA, Sladen GE, Hicks B, Dawson AM. Effects of lactulose and other laxatives on ileal and colonic pH as measured by a radiotelemetry device. *Gut*. 1974;15(12):999–1004.
16. Tap J, Mondot S, Levenez F, Pelletier E, Caron C, Furet J, et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ Microbiol*. 2009;11(10):2574–84.
17. Rackerby B, Van De Grift D, Kim JH, Park SH. Effects of Diet on Human Gut Microbiome and Subsequent Influence on Host Physiology and Metabolism. U: *Gut Microbiome and Its Impact on Health and Diseases*. Cham: Springer International Publishing; 2020. str. 63–84.
18. Hiippala K, Kainulainen V, Kalliomäki M, Arkkila P, Satokari R. Mucosal prevalence and interactions with the epithelium indicate commensalism of *Sutterella* spp. *Front Microbiol*. 2016;7:1706.
19. Kowlgi NG, Chhabra L. D-Lactic Acidosis: An Underrecognized Complication of Short Bowel Syndrome. *Gastroenterol Res Pract*. 2015.;2015:1–8.
20. Muscariello L, De Siena B, Marasco R. Lactobacillus Cell Surface Proteins Involved in Interaction with Mucus and Extracellular Matrix Components. *Curr Microbiol*. 2020;77(12):3831–41.
21. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum* — symbiont, opportunist and oncobacterium. *Nat Rev Microbiol*. 2019;17(3):156–66.

22. Wang N, Fang JY. *Fusobacterium nucleatum*, a key pathogenic factor and microbial biomarker for colorectal cancer. *Trends Microbiol.* 2023;31(2):159–72.
23. Ward TL, Dominguez-Bello MG, Heisel T, Al-Ghalith G, Knights D, Gale CA. Development of the Human Mycobiome over the First Month of Life and across Body Sites. *mSystems.* 2018;3(3) :e00140-17.
24. Mirzaei MK, Maurice CF. Ménage à trois in the human gut: interactions between host, bacteria and phages. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15(7):397–408.
25. Melvan E. In vitro modelling of human gut microbiome linked to obesity [Doctoral Thesis]. [Sydney]: Faculty of Science and Engineering Macquarie University; 2021.
26. Muthaiyan A. Determinants of the Gut Microbiota. U: *Gut Microbiome and Its Impact on Health and Diseases.* Cham: Springer International Publishing; 2020. str. 19–62.
27. Tabashsum Z, Alvarado-Martinez Z, Houser A, Padilla J, Shah N, Young A. Contribution of Human and Animal to the Microbial World and Ecological Balance. U: *Gut Microbiome and Its Impact on Health and Diseases.* Cham: Springer International Publishing; 2020. str. 1–18.
28. Flint HJ. Perspectives and prospects. U: *Why gut microbes matter understanding our microbiome.* Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. str. 137–46.
29. Kalliomäki M, Carmen Collado M, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(3):534–8.
30. Flint HJ. Host responses to gut microbes. U: *Why gut microbes matter understanding our microbiome.* Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. str. 119–26.
31. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, et al. Human Genetics Shape the Gut Microbiome. *Cell.* 2014;159(4):789–99.
32. Murphy K, O’Shea CA, Ryan CA, Dempsey EM, O’Toole PW, Stanton C, et al. The gut microbiota composition in dichorionic triplet sets suggests a role for host genetic factors. *PLoS One.* 2015.;10(4):e0122561.
33. Goodrich JK, Davenport ER, Clark AG, Ley RE. The Relationship Between the Human Genome and Microbiome Comes into View. *Annu Rev Genet.* 2017;51(1):413–33.

34. Putignani L, Del Chierico F, Petrucca A, Vernocchi P, Dallapiccola B. The human gut microbiota: A dynamic interplay with the host from birth to senescence settled during childhood. *Pediatr Res.* 2014;76(1):2-10.
35. Jakobsson HE, Abrahamsson TR, Jenmalm MC, Harris K, Quince C, Jernberg C, et al. Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut.* 2014;63(4):559–66.
36. Biasucci G, Benenati B, Morelli L, Bessi E, Boehm G. Cesarean Delivery May Affect the Early Biodiversity of Intestinal Bacterial. *J Nutr.* 2008;138(9):1796S-1800S.
37. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics.* 2006;118(2):511–21.
38. Collado MC, Cernada M, Neu J, Pérez-Martínez G, Gormaz M, Vento M. Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants. *Pediatr Res.* 2015;77(6):726–31.
39. Fuertes A, Pérez-Burillo S, Apaolaza I, Vallès Y, Francino MP, Rufián-Henares JÁ, et al. Adaptation of the Human Gut Microbiota Metabolic Network During the First Year After Birth. *Front Microbiol.* 2019;10:848.
40. Kumbhare S V, Patangia DV V, Patil RH, Shouche YS, Patil NP. Factors influencing the gut microbiome in children: from infancy to childhood. *J Biosci.* 2019;44(2):49.
41. Ianiro G, Tilg H, Gasbarrini A. Antibiotics as deep modulators of gut microbiota: between good and evil. *Gut.* 2016;65(11):1906–15.
42. Le Bastard Q, Al-Ghalith GA, Grégoire M, Chapelet G, Javaudin F, Dailly E, et al. Systematic review: human gut dysbiosis induced by non-antibiotic prescription medications. Sv. 47, *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* Blackwell Publishing Ltd; 2018. str. 332–45.
43. Mello AM, Paroni G, Daragjati J, Pilotto A. Gastrointestinal Microbiota and Their Contribution to Healthy Aging. *Dig Dis.* 2016;34(3):194–201.
44. Tasnim N, Abulizi N, Pither J, Hart MM, Gibson DL. Linking the Gut Microbial Ecosystem with the Environment: Does Gut Health Depend on Where We Live? *Front Microbiol.* 2017;8:1935.



45. Dill-McFarland KA, Tang ZZ, Kemis JH, Kerby RL, Chen G, Palloni A, et al. Close social relationships correlate with human gut microbiota composition. *Sci Rep.* 2019;9(1):703.
46. Bressa C, Bailén-Andrino M, Pérez-Santiago J, González-Soltero R, Pérez M, Montalvo-Lominchar MG, et al. Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171352.
47. Petersen LM, Bautista EJ, Nguyen H, Hanson BM, Chen L, Lek SH, et al. Community characteristics of the gut microbiomes of competitive cyclists. *Microbiome.* 2017;5(1):98.
48. Barton W, Penney NC, Cronin O, Garcia-Perez I, Molloy MG, Holmes E, et al. The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level. *Gut.* 2018;67(4):625-33.
49. Dong TS, Gupta A. Influence of Early Life, Diet, and the Environment on the Microbiome. *Clin Gastroenterol and Hepatol.* 2019;17(2):231–42.
50. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014.;505(7484):559–63.
51. Sonnenburg ED, Smits SA, Tikhonov M, Higginbottom SK, Wingreen NS, Sonnenburg JL. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature.* 2016;529(7585):212–5.
52. Salonen A, Lahti L, Salojärvi J, Holtrop G, Korpela K, Duncan SH, et al. Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *ISME J.* 2014.;8(11):2218–30.
53. Walker AW, Ince J, Duncan SH, Webster LM, Holtrop G, Ze X, et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *ISME Journal.* 2011;5(2):220–30.
54. Chung WSF, Walker AW, Vermeiren J, Sheridan PO, Bosscher D, Garcia-Campayo V, et al. Impact of carbohydrate substrate complexity on the diversity of the human colonic microbiota. *FEMS Microbiol Ecol.* 2019;95(1):fyy201.

55. Agans R, Gordon A, Kramer DL, Perez-Burillo S, Rufián-Henares JA, Paliy O. Dietary Fatty Acids Sustain the Growth of the Human Gut Microbiota. *Appl Environ Microbiol*. 2018;84(21):e01525-18.
56. Kashtanova DA, Popenko AS, Tkacheva ON, Tyakht AB, Alexeev DG, Boytsov SA. Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. *Nutrition*. 2016;32(6):620–7.
57. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-Gut Microbiota Metabolic Interactions. *Science (1979)*. 2012;336(6086):1262–7.
58. Flint HJ. Gut microbes and metabolites. U: *Why gut microbes matter understanding our microbiome*. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020. str. 109–18.
59. Kim M, Qie Y, Park J, Kim CH. Gut Microbial Metabolites Fuel Host Antibody Responses. *Cell Host Microbe*. 2016;20(2):202–14.
60. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res*. 2013;54(9):2325–40.
61. Flint HJ. Do my microbes make me fat? Potential for the gut microbiota to influence energy balance, obesity and metabolic health in humans. U: *Why gut microbes matter understanding our microbiome*. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2020.
62. Byndloss MX, Olsan EE, Rivera-Chávez F, Tiffany CR, Cevallos SA, Lokken KL, et al. Microbiota-activated PPAR- $\gamma$  signaling inhibits dysbiotic Enterobacteriaceae expansion. *Science*. 2017;357(6351):570–5.
63. Mishra SP, Karunakar P, Taraphder S, Yadav H. Free Fatty Acid Receptors 2 and 3 as Microbial Metabolite Sensors to Shape Host Health: Pharmacophysiological View. *Biomedicines*. 2020;8(6):154.
64. Simadibrata DM, Lesmana E, Gunawan J, Quigley EM, Simadibrata M. A systematic review of gut microbiota profile in COVID-19 patients and among those who have recovered from COVID-19. *J Dig Dis*. 2023;24(4):244-61.
65. Yao Y, Cai X, Fei W, Ye Y, Zhao M, Zheng C. The role of short-chain fatty acids in immunity, inflammation and metabolism. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022;62(1):1-12.

66. Xiang H, Liu QP. Alterations of the gut microbiota in coronavirus disease 2019 and its therapeutic potential. *World J Gastroenterol*. 2022;28(47):6689-701.
67. Ridlon JM, Wolf PG, Gaskins HR. Taurocholic acid metabolism by gut microbes and colon cancer. *Gut Microbes*. 2016;7(3):201–15.
68. Feng W, Liu J, Cheng H, Zhang D, Tan Y, Peng C. Dietary compounds in modulation of gut microbiota-derived metabolites. *Front Nutr*. 2022;9:939571.
69. Schiattarella GG, Sannino A, Toscano E, Giugliano G, Gargiulo G, Franzone A, et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Eur Heart J*. 2017;38(39):2948–56.
70. Louis P, Hold GL, Flint HJ. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. Sv. 12, *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group; 2014. str. 661–72.
71. Windey K, De Preter V, Verbeke K. Relevance of protein fermentation to gut health. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(1):184–96.
72. Zuo T, Liu Q, Zhang F, Lui GCY, Tso EYK, Yeoh YK, et al. Depicting SARS-CoV-2 faecal viral activity in association with gut microbiota composition in patients with COVID-19. *Gut*. 2021;70(2):276–84.
73. Al-Momani H, Aolymat I, Almasri M, Mahmoud SA, Mashal S. Prevalence of gastrointestinal symptoms among COVID-19 patients and the association with disease clinical outcomes. *Future Sci OA*. 2023;21;9(5):FSO858.
74. World Health Organization. WHO COVID-19 dashboard. 2024. Dostupno na: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/>. Pristupljeno: 22. ožujka 2024.
75. Wang C, Ramasamy A, Verduzco-Gutierrez M, Brode WM, Melamed E. Acute and post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection: a review of risk factors and social determinants. *Virology*. 2023;20(1):124.
76. A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus. 2021. Dostupno na: <https://reliefweb.int/report/world/clinical-case-definition-post-covid-19-condition-delphi-consensus-6-october->

- [2021?gad\\_source=1&gclid=CjwKCAjwoa2xBhACEiwA1sb1BLp4uWxsggKs\\_53HxDHWxsY4\\_jZQGxR6PuOJBcr\\_wRvUnf51NsEopRoCS-MQAvD\\_BwE](https://doi.org/10.1186/s12874-021-01000-3). Pristupljeno: 22. ožujka 2024.
77. Tieu V, Tibi S, Ling J. Regulation of SARS-CoV-2 infection by diet-modulated gut microbiota. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1167827
  78. Eleftheriotis G, Tsounis EP, Aggeletopoulou I, Dousdampanis P, Triantos C, Mouzaki A, et al. Alterations in gut immunological barrier in SARS-CoV-2 infection and their prognostic potential. *Front Immunol.* 2023;14:1129190.
  79. Kumar A, Narayan RK, Kulandhasamy M, Prasoon P, Kumari C, Kumar S, et al. COVID-19 pandemic: insights into molecular mechanisms leading to sex-based differences in patient outcomes. *Expert Rev Mol Med.* 2021;23:e7.
  80. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, Yeoh YK, Li AYL, Zhan H, et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology.* 2020;159(3):944-955.e8.
  81. Bailey KL, Samuelson DR, Wyatt TA. Alcohol use disorder: A pre-existing condition for COVID-19? *Alcohol.* 2021;90:11-17.
  82. Tao W, Zhang G, Wang X, Guo M, Zeng W, Xu Z, et al. Analysis of the intestinal microbiota in COVID-19 patients and its correlation with the inflammatory factor IL-18. *Med Microecol.* 2020;5:100023.
  83. Woodall CA, McGeoch LJ, Hay AD, Hammond A. Respiratory tract infections and gut microbiome modifications: A systematic review. *PLoS One.* 2022;17(1):e0262057.
  84. Reuben RC, Beugnon R, Jurburg SD. COVID-19 alters human microbiomes: a meta-analysis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1211348.
  85. Galperine T, Choi Y, Pagani JL, Kritikos A, Papadimitriou-Olivgeris M, Méan M, et al. Temporal changes in fecal microbiota of patients infected with COVID-19: a longitudinal cohort. *BMC Infect Dis.* 2023;23(1):537.
  86. Ancona G, Alagna L, Alteri C, Palomba E, Tonizzo A, Pastena A, et al. Gut and airway microbiota dysbiosis and their role in COVID-19 and long-COVID. *Front Immunol.* 2023;14:1080043.

87. Farsi Y, Tahvildari A, Arbabi M, Vazife F, Sechi LA, Shahidi Bonjar AH, et al. Diagnostic, Prognostic, and Therapeutic Roles of Gut Microbiota in COVID-19: A Comprehensive Systematic Review. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12: 804644.
88. Mazzei A, Giancola ML, Farina A, Marchioni L, Rueca M, Gruber CEM, et al. 16S rRNA gene sequencing of rectal swab in patients affected by COVID-19. *PLoS One.* 2021;16(2):e0247041.
89. Gu S, Chen Y, Wu Z, Chen Y, Gao H, Lv L, et al. Alterations of the Gut Microbiota in Patients With Coronavirus Disease 2019 or H1N1 Influenza. *Clin Infect Dis.* 2020;71(10):2669-78.
90. Tao W, Zhang G, Wang X, Guo M, Zeng W, Xu Z, et al. Analysis of the intestinal microbiota in COVID-19 patients and its correlation with the inflammatory factor IL-18. *Med Microecol.* 2020.;5:100023.
91. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, Yeoh YK, Li AYL, Zhan H, et al. Alterations in Gut Microbiota of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization. *Gastroenterology.* 2020;159(3):944-955.e8.
92. Zuo T, Zhan H, Zhang F, Liu Q, Tso EYK, Lui GCY, et al. Alterations in Fecal Fungal Microbiome of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization until Discharge. *Gastroenterology.* listopad 2020.;159(4):1302-1310.e5.
93. Tang L, Gu S, Gong Y, Li B, Lu H, Li Q, et al. Clinical Significance of the Correlation between Changes in the Major Intestinal Bacteria Species and COVID-19 Severity. *Engineering.* 2020;6(10):1178–84.
94. Al Bataineh MT, Henschel A, Mousa M, Daou M, Waasia F, Kannout H, et al. Gut Microbiota Interplay With COVID-19 Reveals Links to Host Lipid Metabolism Among Middle Eastern Populations. *Front Microbiol.* 2021;12.
95. Gaibani P, D'Amico F, Bartoletti M, Lombardo D, Rampelli S, Fornaro G, et al. The Gut Microbiota of Critically Ill Patients With COVID-19. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:670424.
96. Moreira-Rosário A, Marques C, Pinheiro H, Araújo JR, Ribeiro P, Rocha R, et al. Gut Microbiota Diversity and C-Reactive Protein Are Predictors of Disease Severity in COVID-19 Patients. *Front Microbiol.* 2021;12:705020.

97. Khan M, Mathew BJ, Gupta P, Garg G, Khadanga S, Vyas AK, et al. Gut Dysbiosis and IL-21 Response in Patients with Severe COVID-19. *Microorganisms*. 2021;9(6):1292.
98. Kim HN, Joo EJ, Lee CW, Ahn KS, Kim HL, Park DI, et al. Reversion of Gut Microbiota during the Recovery Phase in Patients with Asymptomatic or Mild COVID-19: Longitudinal Study. *Microorganisms*. 2021;9(6):1237.
99. Li S, Yang S, Zhou Y, Disoma C, Dong Z, Du A, et al. Microbiome Profiling Using Shotgun Metagenomic Sequencing Identified Unique Microorganisms in COVID-19 Patients With Altered Gut Microbiota. *Front Microbiol*. 2021;12:712081.
100. Liu Y, Zhang H, Tang X, Jiang X, Yan X, Liu X, et al. Distinct Metagenomic Signatures in the SARS-CoV-2 Infection. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:706970.
101. Wu C, Xu Q, Cao Z, Pan D, Zhu Y, Wang S, et al. The volatile and heterogeneous gut microbiota shifts of COVID-19 patients over the course of a probiotics-assisted therapy. *Clin Transl Med*. 2021;11(12):e643.
102. Wu Y, Cheng X, Jiang G, Tang H, Ming S, Tang L, et al. Altered oral and gut microbiota and its association with SARS-CoV-2 viral load in COVID-19 patients during hospitalization. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2021;7(1):61.
103. Yeoh YK, Zuo T, Lui GCY, Zhang F, Liu Q, Li AY, et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. *Gut*. 2021;70(4):698–706.
104. He F, Zhang T, Xue K, Fang Z, Jiang G, Huang S, et al. Fecal multi-omics analysis reveals diverse molecular alterations of gut ecosystem in COVID-19 patients. *Anal Chim Acta*. 2021;1180:338881.
105. Cao J, Wang C, Zhang Y, Lei G, Xu K, Zhao N, et al. Integrated gut virome and bacteriome dynamics in COVID-19 patients. *Gut Microbes*. 2021; 13(1):1-21.
106. Lv L, Jiang H, Chen Y, Gu S, Xia J, Zhang H, et al. The faecal metabolome in COVID-19 patients is altered and associated with clinical features and gut microbes. *Anal Chim Acta*. 2021;1152:338267.
107. Lv L, Gu S, Jiang H, Yan R, Chen Y, Chen Y, et al. Gut mycobiota alterations in patients with COVID-19 and H1N1 infections and their associations with clinical features. *Commun Biol*. 2021;4(1):480.

108. Hazan S, Stollman N, Bozkurt HS, Dave S, Papoutsis AJ, Daniels J, et al. Lost microbes of COVID-19: *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* depletion and decreased microbiome diversity associated with SARS-CoV-2 infection severity. *BMJ Open Gastroenterol.* 2022;9(1):e000871.
109. Maeda Y, Motooka D, Kawasaki T, Oki H, Noda Y, Adachi Y, et al. Longitudinal alterations of the gut mycobiota and microbiota on COVID-19 severity. *BMC Infect Dis.* 2022;22(1):572.
110. Mizutani T, Ishizaka A, Koga M, Ikeuchi K, Saito M, Adachi E, et al. Correlation Analysis between Gut Microbiota Alterations and the Cytokine Response in Patients with Coronavirus Disease during Hospitalization. *Microbiol Spectr.* 2022;10(2):e0168921.
111. Rafiqul Islam SM, Foysal MdJ, Hoque MN, Mehedi HMH, Rob MdA, Salauddin A, et al. Dysbiosis of Oral and Gut Microbiomes in SARS-CoV-2 Infected Patients in Bangladesh: Elucidating the Role of Opportunistic Gut Microbes. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:821777.
112. Schult D, Reitmeier S, Koyumdzhieva P, Lahmer T, Middelhoff M, Erber J, et al. Gut bacterial dysbiosis and instability is associated with the onset of complications and mortality in COVID-19. *Gut Microbes.* 2022.;14(1):2031840.
113. Sehli S, Idrissi Azami A, Dini N, Habib N, Chaouni B, Hamdi S, et al. Gut Microbiome 16S rRNA Gene Amplicon Taxonomic Profiling of Hospitalized Moroccan COVID-19 Patients. *Microbiol Resour Announc.* 2022;11(7):e0025622.
114. Shen Y, Yu F, Zhang D, Zou Q, Xie M, Chen X, et al. Dynamic Alterations in the Respiratory Tract Microbiota of Patients with COVID-19 and its Association with Microbiota in the Gut. *Adv Sci (Weinh).* 2022;9(27):e2200956.
115. Xu X, Zhang W, Guo M, Xiao C, Fu Z, Yu S, et al. Integrated analysis of gut microbiome and host immune responses in COVID-19. *Front Med.* 2022;16(2):263–75.
116. Suskun C, Kilic O, Yilmaz Ciftdogan D, Guven S, Karbuz A, Ozkaya Parlakay A, et al. Intestinal microbiota composition of children with infection with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and multisystem inflammatory syndrome (MIS-C). *Eur J Pediatr.* 2022.;181(8):3175–91.

117. Zhang F, Wan Y, Zuo T, Yeoh YK, Liu Q, Zhang L, et al. Prolonged Impairment of Short-Chain Fatty Acid and L-Isoleucine Biosynthesis in Gut Microbiome in Patients With COVID-19. *Gastroenterology*. 2022;162(2):548-561.e4.
118. Zhou T, Wu J, Zeng Y, Li J, Yan J, Meng W, et al. SARS-CoV-2 triggered oxidative stress and abnormal energy metabolism in gut microbiota. *MedComm* (2020). 2022;3(1):e112.
119. Ferreira-Junior AS, Borgonovi TF, De Salis LVV, Leite AZ, Dantas AS, De Salis GVV, et al. Detection of Intestinal Dysbiosis in Post-COVID-19 Patients One to Eight Months after Acute Disease Resolution. *Int J Environ Res Public Health*. 17. kolovoz 2022.;19(16):10189.
120. Tian Y, Sun K yi, Meng T qing, Ye Z, Guo S meng, Li Z ming, et al. Gut Microbiota May Not Be Fully Restored in Recovered COVID-19 Patients After 3-Month Recovery. *Front Nutr*. 13. svibanj 2021;8:638825.
121. Zhou Y, Zhang J, Zhang D, Ma WL, Wang X. Linking the gut microbiota to persistent symptoms in survivors of COVID-19 after discharge. *J Microbiol*. 2021;59(10):941–8.
122. Liu Q, Mak JWY, Su Q, Yeoh YK, Lui GCY, Ng SSS, et al. Gut microbiota dynamics in a prospective cohort of patients with post-acute COVID-19 syndrome. *Gut*. 2022;71(3):544–52.
123. Liu Q, Mak JWY, Su Q, Yeoh YK, Lui GCY, Ng SSS, et al. Gut microbiota dynamics in a prospective cohort of patients with post-acute COVID-19 syndrome. *Gut*. 2022;71(3):544–52.
124. Banerjee A, Somasundaram I, Das D, Jain Manoj S, Banu H, Mitta Suresh P, et al. Functional Foods: A Promising Strategy for Restoring Gut Microbiota Diversity Impacted by SARS-CoV-2 Variants. *Nutrients*. 2023;15(11):2631.
125. Coleman JL, Hatch-McChesney A, Small SD, Allen JT, Sullo E, Agans RT, et al. Orally Ingested Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics as Countermeasures for Respiratory Tract Infections in Nonelderly Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Nutrition*. 2022;13(6):2277–95.
126. d’Ettorre G, Ceccarelli G, Marazzato M, Campagna G, Pinacchio C, Alessandri F, et al. Challenges in the Management of SARS-CoV2 Infection: The Role of Oral



- Bacteriotherapy as Complementary Therapeutic Strategy to Avoid the Progression of COVID-19. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:389.
127. Catinean A, Sida A, Silvestru C, Balan GG. Ongoing Treatment with a Spore-Based Probiotic Containing Five Strains of *Bacillus* Improves Outcomes of Mild COVID-19. *Nutrients*. 2023;15(3):488.
  128. Zhang L, Han H, Li X, Chen C, Xie X, Su G, et al. Probiotics use is associated with improved clinical outcomes among hospitalized patients with COVID-19. *Therap Adv Gastroenterol*. 2021;14:175628482110356.
  129. Wang H, Wang Y, Lu C, Qiu L, Song X, Jia H, et al. The efficacy of probiotics in patients with severe COVID-19. *Ann Palliat Med*. 2021;10(12):12374–80.
  130. Gutiérrez-Castrellón P, Gandara-Martí T, Abreu Y Abreu AT, Nieto-Rufino CD, López-Orduña E, Jiménez-Escobar I, et al. Probiotic improves symptomatic and viral clearance in Covid19 outpatients: a randomized, quadruple-blinded, placebo-controlled trial. *Gut Microbes*. 2022;14(1):2018899.
  131. Wischmeyer PE, Tang H, Ren Y, Bohannon L, Jiang D, Bergens M, et al. Efficacy of probiotic treatment as post-exposure prophylaxis for COVID-19: A double-blind, Placebo-Controlled Randomized trial. *Clin Nutrition*. 2024;43(1):259–67.
  132. Ivashkin V, Fomin V, Moiseev S, Brovko M, Maslennikov R, Ulyanin A, et al. Efficacy of a Probiotic Consisting of *Lacticaseibacillus rhamnosus* PDV 1705, *Bifidobacterium bifidum* PDV 0903, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* PDV 1911, and *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* PDV 2301 in the Treatment of Hospitalized Patients with COVID-19: a Randomized Controlled Trial. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2023;15(3):460–8.
  133. Wong MCS, Zhang L, Ching JYL, Mak JWY, Huang J, Wang S, et al. Effects of Gut Microbiome Modulation on Reducing Adverse Health Outcomes among Elderly and Diabetes Patients during the COVID-19 Pandemic: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial (IMPACT Study). *Nutrients*. 2023;15(8):1982.
  134. Liu F, Ye S, Zhu X, He X, Wang S, Li Y, et al. Gastrointestinal disturbance and effect of fecal microbiota transplantation in discharged COVID-19 patients. *J Med Case Rep*. 2021;15(1):60.

135. De Faria Coelho-Ravagnani C, Corgosinho FC, Sanches FLFZ, Prado CMM, Laviano A, Mota JF. Dietary recommendations during the COVID-19 pandemic. *Nutr Rev.* 2021;79(4):382–93.
136. Hernández-Flores T de J, Pedraza-Brindis EJ, Cárdenas-Bedoya J, Ruíz-Carrillo JD, Méndez-Clemente AS, Martínez-Guzmán MA, et al. Role of Micronutrients and Gut Microbiota-Derived Metabolites in COVID-19 Recovery. *Int J Mol Sci.* 2022;23(20):12324.
137. Neag MA, Vulturar DM, Gherman D, Burlacu CC, Todea DA, Buzoianu AD. Gastrointestinal microbiota: A predictor of COVID-19 severity? *World J Gastroenterol.* 2022;28(45):6328–44.
138. Merino J, Joshi AD, Nguyen LH, Leeming ER, Mazidi M, Drew DA, et al. Diet quality and risk and severity of COVID-19: a prospective cohort study. *Gut.* 2021;70(11):2096–104.
139. Kim H, Rebholz CM, Hegde S, Lafiura C, Raghavan M, Lloyd JF, et al. Plant-based diets, pescatarian diets and COVID-19 severity: A population-based case-control study in six countries. *BMJ Nutr Prev Health.* 2021;4(1):257–66.
140. Blackett JW, Sun Y, Purpura L, Margolis KG, Elkind MSV, O’Byrne S, et al. Decreased Gut Microbiome Tryptophan Metabolism and Serotonergic Signaling in Patients With Persistent Mental Health and Gastrointestinal Symptoms After COVID-19. *Clin Transl Gastroenterol.* 2022;13(10):e00524.
141. Šik Novak K, Bogataj Jontez N, Kenig S, Hladnik M, Baruca Arbeiter A, Bandelj D, et al. The effect of COVID-19 lockdown on mental health, gut microbiota composition and serum cortisol levels. *Stress.* 2022;25(1):246–57.
142. Moon Y. Gut distress and intervention via communications of SARS-CoV-2 with mucosal exposome. *Front Public Health.* 2023;11:1098774.
143. Zhang L, Liu Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: A systematic review. *J Med Virol.* 2020;92(5):479–90.
144. Itsiopoulos C, Mayr HL, Thomas CJ. The anti-inflammatory effects of a Mediterranean diet: a review. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2022;25(6):415-22.

145. Koelman L, Egea Rodrigues C, Aleksandrova K. Effects of Dietary Patterns on Biomarkers of Inflammation and Immune Responses: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Adv Nutr.* 2022;13(1):101-15.