

Utjecaj probiotika i prehrane na infekciju bakterijom *Helicobacter pylori*

Trogrlić, Jasna

Professional thesis / Završni specijalistički

2017

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:748289>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-02**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET**

Jasna Trogrlić

**UTJECAJ PROBIOTIKA I PREHRANE NA INFEKCIJU
BAKTERIJOM *HELICOBACTER PYLORI***

Specijalistički rad

Zagreb, 2017.

Poslijediplomski specijalistički studij Fitofarmacija s dijetoterapijom

Mentor: prof. dr. sc. Irena Vedrina Dragojević

Specijalistički rad obranjen je dana 9. svibnja 2017. godine, u 13.00 sati u Knjižnici Zavoda za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, Marulićev trg 20/II, pred povjerenstvom u sastavu:

1. doc. dr. sc. Donatella Verbanac
Sveučilište u Zagrebu
Medicinski fakultet
2. dr. sc. Irena Vedrina Dragojević, red. prof. u mir.
Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
3. prof. dr. sc. Sanda Vladimir-Knežević
Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet

Rad ima 54 lista.

PREDGOVOR

Specijalistički rad je izrađen na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u sklopu poslijediplomskog specijalističkog studija Fitofarmacija s dijetoterapijom pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Irene Vedrine Dragojević.

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Ireni Vedrini Dragojević na stručnoj pomoći, velikom strpljenju i iskazanom razumijevanju tijekom izrade rada.

Zahvaljujem kolegama iz tvrtke Pharmatheka consult d.o.o. koji su podržali i financijski poduprli studij i izradu rada.

Mojoj obitelji hvala za podršku tijekom specijalističkog studija.

SAŽETAK

Cilj istraživanja: Cilj istraživanja ovog specijalističkog rada je analiza utjecaja probiotika i hrane na infekciju bakterijom *H. pylori*. Pregledom znanstvenih radova želi se dokazati doprinos hrane i probiotika u suzbijanju *H. pylori* infekcije te potencijal u smanjenju rizika od nastanka bolesti gornjeg gastrointestinalnog sustava vezanih uz *H. pylori* infekciju.

Materijal / ispitanici i metode: Kao izvor podataka korištene su znanstvene i stručne studije iz različitih baza podataka; *in vitro* studije, studije na animalnim modelima te studije provedene na zdravim dobrovoljcima s potvrđenom *H. pylori* infekcijom.

Rezultati: Prema rezultatima istraživanja, primjena probiotika ne pokazuje eradikacijski potencijal na *H. pylori*, ali smanjuje ukupno bakterijsko opterećenje u želucu. Primjena probiotika poboljšava stopu uspješnosti standardne terapije eradikacije i smanjuje intenzitet nuspojava antibiotika čime doprinose boljoj suradljivosti pacijenata. Unos određenih vrsta namirnica pokazuje sposobnost moduliranja ukupnog bakterijskog opterećenja *H. pylori*, kao i protektivni učinak na sluznicu želuca. Komponente hrane ne pokazuju sposobnost eradikacije unatoč izrazitom antibakterijskom potencijalu *in vitro*.

Zaključak: Obzirom na visoku prevalenciju *H. pylori* infekcije te njezinu povezanost s rizikom od nastanka karcinoma želuca, pronalazak prehrambenih smjernica koje bi smanjile incidenciju nastanka bolesti predstavljalo bi značajan doprinos u kontroliranju i upravljanju procesom nastanka bolesti.

Ključne riječi: *H. pylori*, hrana, probiotici

SUMMARY

Objectives: The aim of this study thesis is to introduce the effects of food and probiotics on *H. pylori* infection by obtaining as many data as possible to confirm their beneficial effects. This paper is a review of scientific research and its aim is to confirm the contribution of food and probiotics in eradication rate of *H. pylori*, and also to show protective potential for lowering incidence of upper gastrointestinal system disease connected with *H. pylori* infection.

Material / Patients and Methods: The materials and methods used were scientific papers and the Professional Studies from different databases. Studies conducted *in vitro*, animal models and studies conducted on healthy volunteers with proven *H. pylori* infection.

Results: According to research results, the intake of probiotics does not show the potential to eradicate *H. pylori*, but it lowers the bacterial load in the stomach. Adding probiotics to standard triple therapy contributes to more successful eradication rate, lowers side effects caused by the antibiotics and meliorates patient compliance. Intake of specific foods exhibits modulatory effects on bacterial load of *H. pylori*, and protective effect on the stomach mucosa. Food components show significant antibacterial properties *in vitro*, though the effect was not present when they were applied in human studies.

Conclusion: Considering high prevalence of *H. pylori* infection and proven relationship with stomach cancer incidence, finding a food regimen which would lower the incidence of disease would be a beneficial contribution in controlling and managing of disease caused by *H. pylori* infection.

Keywords: *H. pylori*, food, probiotics

SADRŽAJ

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	1
1.1. UVOD	1
1.1.1. <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	2
1.1.2. EPIDEMIOLOGIJA <i>H. PYLORI</i>	2
1.1.3. EVOLUCIJA OD KOLONIZACIJE DO INDUKCIJE BOLESTI	5
1.1.4. DIJAGNOSTIKA <i>H. PYLORI</i>	6
1.1.5. LIJEČENJE INFEKCIJE BAKTERIJOM <i>H. PYLORI</i>	7
1.2. PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA	9
1.2.1. PROCES INDUKCIJE UPALE I OKSIDATIVNOG STRESA	9
1.2.2. FUNKCIJSKA DISPEPSIJA	10
1.2.3. GASTRITIS	11
1.2.4. PEPTIČKI ULKUS	12
1.2.5. KARCINOM ŽELUCA	12
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	14
3. MATERIJALI I METODE	15
3.1. MEHANIZAM DJELOVANJA KOMPONENTI HRANE NA <i>H. PYLORI</i>	15
3.1.1. PROBIOTICI	15
3.1.2. POLIFENOLI	17
3.1.2.1. NAJZNAČAJNIJI POLIFENOLI	19
3.1.2.2. POLIFENOLI IZ VOĆA	21
3.1.3. FITOKEMIJE SA SUMPOROM	22
3.2. STUDIJE NA LJUDIMA	23
3.2.1. SAMOSTALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD <i>H. PYLORI</i> INFEKCIJE	23
3.2.2. PROBIOTICI KAO ADJUVANTNA TERAPIJA KOD STANDARDNE TERAPIJE ERADIKACIJE <i>H. PYLORI</i>	26
3.2.3. UČINAK HRANE NA <i>H. PYLORI</i> INFEKCIJU I SMANJIVANJE RIZIKA NASTANKA BOLESTI UZROKOVANIH INFEKCIJOM	31
4. RASPRAVA	40
5. ZAKLJUČAK	48
6. LITERATURA	50
7. ŽIVOTOPIS	55

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.1. UVOD

Infekcija bakterijom *Helicobacter pylori* jedna je od najčešćih svjetskih infekcija. Procjenjuje se da je oko 50% svjetske populacije zaraženo ovom bakterijom. Barry J. Marshall i J. Robin Warren 1983 g. identificirali su bakteriju *Helicobacter pylori* kao glavnog uzročnika gastritisa i peptičke ulkusne bolesti. Nakon otkrića provedena su brojna istraživanja kojima je potvrđena temeljna uloga *H. pylori* pri razvoju dispepsije, kroničnoga gastritisa, želučanog i duodenalnog ulkusa, a potom i uloga u patogenezi želučanog karcinoma. Dokazano je da ima ključnu ulogu i u nastanku niskomalignih MALT limfoma. 1994. godine svrstana je u kancerogene prvog reda. Unatoč činjenici da infekcija neizbježno rezultira razvojem različitih stupnjeva gastritisa u 80 – 100% osoba, 80% inficiranih neće imati znatnije gastrointestinalne tegobe. U oko 10% inficiranih osoba razviti će se peptički ulkus, u oko 1% karcinom želuca, a u manje od 0.1% MALT limfom (1).

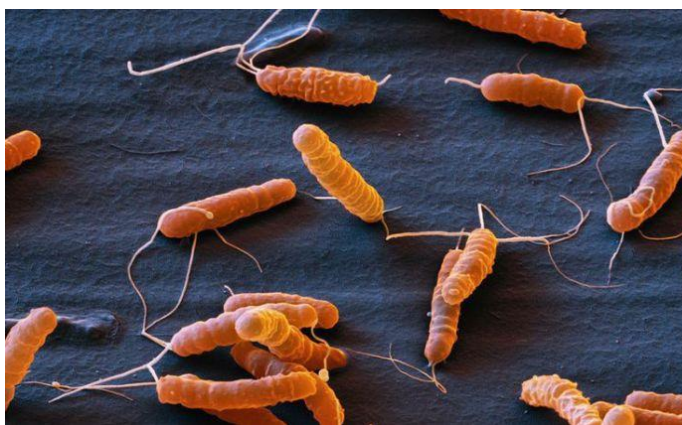
Infekcija bakterijom *H. pylori* je globalni javnozdravstveni problem. Eradikacija *H. pylori* pokazala se kao učinkoviti faktor smanjenja rizika nastanka bolesti povezanih uz infekciju. Novija istraživanja pokazuju da učinkovitost primjene standardne trojne terapije nije zadovoljavajuća, stupanj učinkovitosti je 70%. Neki od razloga za smanjenje stupnja učinkovitosti su: suradljivost pacijenata, izrazita kiselost želuca, visoko bakterijsko opterećenje, vrsta bakterijskih sojeva i, najvažnije, povećana rezistencija na klaritromicin (2).

Obzirom na visoku svjetsku prevalenciju *H. pylori* infekcije potrebno je poboljšati uspjeh eradikacijske terapije. Budući da trenutno nema novih lijekova, a primjenom novih kombinacija postojećih lijekova uspjeh eradikacije može se povećati oko 10%, otvara se prostor za uvođenje adjuvantne terapije poput probiotika (2). Potrebno je u obzir uzeti i situaciju kod prisutne infekcije, ali bez izraženih simptoma, u kojoj provođenje eradikacijske terapije nije opravdano. U takvim slučajevima potrebno je razmotriti mogućnost primjene različite hrane i dodataka prehrani koji bi

smanjili ukupno bakterijsko opterećenje te djelovali preventivno na posljedice koje može uzrokovati dugotrajna *H. pylori* infekcija.

1.1.1. *HELICOBACTER PYLORI*

Helicobacter pylori je spiralna, Gram negativna, mikroaerofilna štapićasta bakterija. Ima 4 – 7 bičeva koji se nalaze samo na jednom polu i upravo zahvaljujući njima je visoko pokretna, što se zorno vidi na slici 1. Duga je 3 – 5 μm i promjera 0.5 μm . Optimalna temperatura rasta 35°C – 36°C. Preživljava u okolišu pH vrijednosti 3 – 7 (3).



Slika 1. *H. pylori* (uvećanje 10000x pretražnom elektronskom mikroskopijom) (4).

Svi sojevi *H. pylori* proizvode velike količine enzima ureaze, te citokromoksidazu, katalazu, superoksid-dismutazu (SOD), mucinazu i fosfolipazu. Dio sojeva proizvodi vakuolizirajući citotoksin (VacA) i antigen pridružen citotoksinu (Cag A protein) (5). Genom *H. pylori* u potpunosti je sekvencioniran 1997. godine.

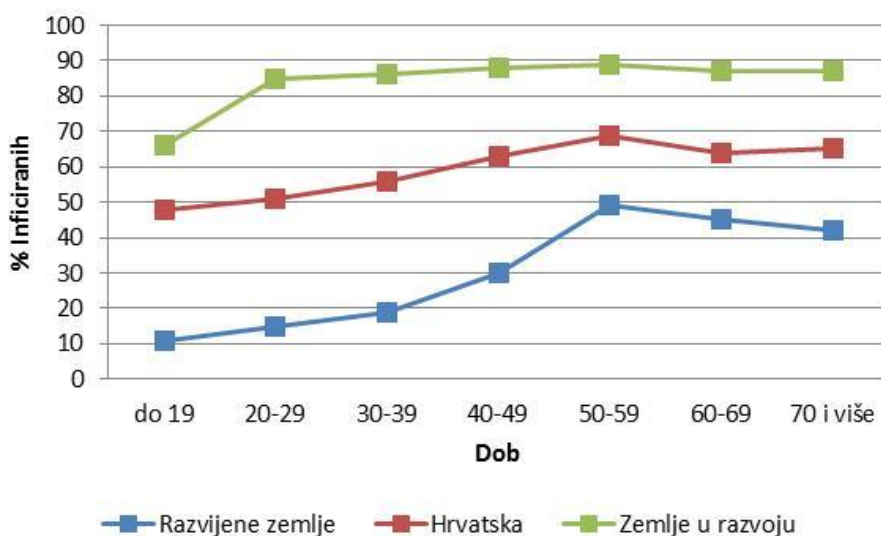
1.1.2. EPIDEMIOLOGIJA *H. PYLORI*

Infekcija bakterijom *H. pylori* uglavnom se stječe u djetinjstvu. Iako kod djece ona može spontano nestati, uglavnom, jednom prisutna infekcija, traje godinama, a spontana eradikacija je vrlo rijetka.

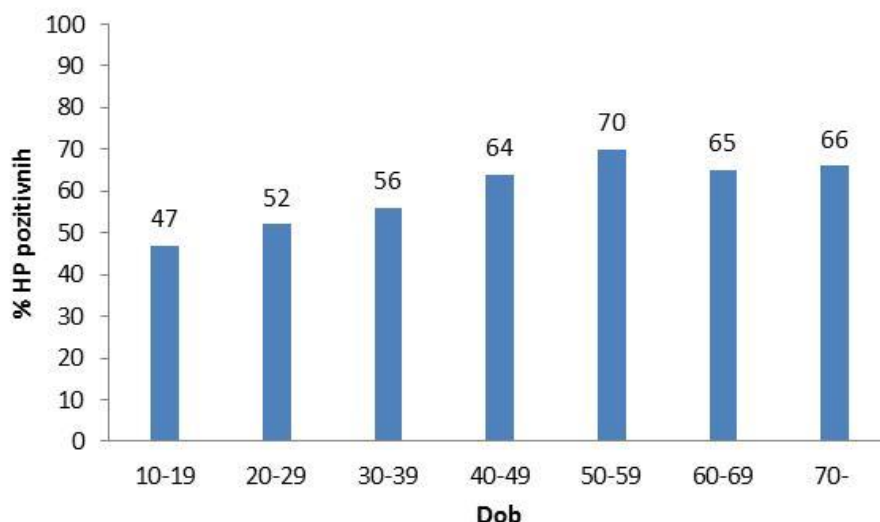
Procjenjuje se da je u razvijenim zemljama inficirano oko 50% populacije, dok u zemljama u razvoju taj postotak iznosi 80 – 90%. Postoje velike razlike među pojedinim zemljama, ali i između

dobnih skupina unutar svake zemlje (Slika 2.). U zemljama niskog socioekonomskog statusa i lošim životnim uvjetima u djetinjstvu zabilježene su najviše stope prevalencije (6). Većina djece u zemljama s ovim obilježjima zaražena je već do navršene desete godine života. U zapadnim razvijenim zemljama zabilježen je niski postotak zaražene djece u dobi do 5 godina života. Unatoč razlikama u dječjoj dobi, prevalencija u odrasloj dobi raste s porastom životne dobi. Primjerice u Sjedinjenim Američkim Državama prevalencija u dječjoj dobi je oko 1% dok je u odrasloj dobi 35 – 40% (3).

Stopa prevalencije infekcije u odrasloj populaciji Hrvatske je visoka, čak 68%. U sjevernim područjima oko 73% (Međimurje 68.9%, Krapinsko-zagorska županija 78.8%, Koprivnica 72.2%, Varaždin 76.8%, Vrbovec 73.1%) dok je u priobalnim područjima 66% (zadarsko područje). Prevalencija infekcije značajno raste u starijoj dobi, posebno iznad 45 godine života (Slika 3.) (6).



Slika 2. Učestalost pozitivnih seroloških nalaza za *H. pylori* infekciju u različitim dobnim skupinama u zdravoj populaciji u Hrvatskoj, razvijenim zemljama i zemljama u razvoju (7).



Slika 3. Učestalost pozitivnih seroloških nalaza za *H. pylori* infekciju u različitim dobnim skupinama u zdravoj populaciji u Hrvatskoj (6).

Dosadašnja istraživanja (6) pokazala su da postoji nekoliko rizičnih čimbenika za infekciju bakterijom *H. pylori*. Jedan od važnijih čimbenika je dob. Kao što je i prethodno opisano, stopa prevalencije raste s dobi. U budućnosti će vjerojatno porast prevalencije vezana uz dob biti manja obzirom da se stopa infekcije kod djece smanjuje. Socioekonomski status je glavni čimbenik infekcije. Loš socioekonomski status u djetinjstvu doprinosi stjecanju doživotne infekcije. Viši životni standard, bolji stupanj obrazovanja i bolji sanitarni uvjeti doprinose nižoj stopi prevalencije. Nadalje, genetski čimbenici također doprinose riziku infekcije što je pokazano na studijama s homozigotnim blizancima. Viša prevalencija infekcije prisutna je i u velikim obiteljima, gdje je roditelj inficiran s bakterijom *H. pylori*. U toj situaciji posebno je izloženo dojenče. Kao posljedica izloženosti želučanom sadržaju inficirane osobe, veća je stopa infekcije kod medicinskih djelatnika, posebice osoblja u endoskopskim laboratorijima i specijalista gastroenterologa (6).

Način prijenosa infekcije bakterijom *H. pylori* još uvijek nije potpuno istražen. Sva dosadašnja ispitivanja govore u prilog tome da se infekcija prenosi izravno od zaražene osobe na zdravu osobu. Većina studija govori u prilog tome da je prijenos najčešće gastro-oralni, a rjeđe oro-oralni ili feko-oralni. Iako je prisutnost *H. pylori* dokazana i kod kućnih ljubimaca, način prijenosa sa životinja na ljude još uvijek nije dokazan. Postoje i pokazatelji da je veća mogućnost infekcije kod djeteta kojem roditelj ponudi prožvakanu hranu i da boravak u većem kolektivu (velike jasličke i vrtičke skupine)

također može povećati stopu prevalencije. *H. pylori* se može pronaći i u otpadnim vodama, te kontaminiranoj hrani. Možemo zaključiti da niti jedan od nabrojanih putova prijenosa nije potpuno isključiv, mada većina radova govori u prilog tome da je najizgledniji put prijenosa izravno od zaražene osobe (8).

1.1.3. EVOLUCIJA OD KOLONIZACIJE DO INDUKCIJE BOLESTI

H. pylori kolonizira želudac i duodenum. Osim same kolonizacije, bitno je da se bakterija održi na samoj sluznici te postane induktor bolesti. Iako je na kiseli okoliš otpornija od mnogih drugih bakterija, *H. pylori* ne može preživjeti izrazito niski pH želuca. Kako bi preživjela, koristi 2 osnovna mehanizma; produkciju ureaze te kretanje prema alkalnijem pH području ispod sloja sluzi želuca. *H. pylori* proizvodi velike količine enzima ureaze kojima je za aktivnost bitno prisustvo nikla. Ureaze imaju dvostruko djelovanje; ona prisutna u citoplazmi bakterijske stanice opskrbljuje bakteriju spojevima nužnim za sintezu aminokiselina, a ureaza prisutna na površini bakterijske stanice neutralizira želučanu kiselinu. Djelovanjem ureaza dolazi do razgradnje uree prisutne u želucu na amonijak i CO₂. Prisutni amonijak omogućuje stvaranje blago alkalnog mikrookoliša (3). Kretanjem bičevima nastanjuje površinu epitelnih stanica želuca ispod sloja sluzi koji ih štiti od pretjerano kiselog okoliša. Uglavnom je prihvaćeno da se svrdlastim pokretima *H. pylori* kreće kroz sluznicu, međutim Celli i sur. (9) su dokazali da, za kretanje koristi i promjene u reološkim svojstvima sluzi. Na animalnom modelu su dokazali da podizanje pH vrijednosti u mikro okolišu bakterije smanjuje viskoelastičnost sluzi te se ona slobodno pokreće i otvara put za vezanje na epitelni sloj. Njihovim istraživanjem otvorena je mogućnost da je kretanje *H. pylori* kroz sloj sluzi uzrokovalo narušavanje zaštitne funkcije barijere.

Dva navedena mehanizma preživljavanja ujedno su i čimbenici dugotrajnog zadržavanja bakterije u globalno nepovoljnom okolišu. *H. pylori* proizvodi katalazu i superoksid-dismutazu (SOD) koje nepovoljno djeluju na fagocite, a za dugotrajni opstanak neophodno željezo dobiva zahvaljujući

receptorima za humani laktoferin. Ujedno HspA (heat shock protein A) ureazi daje nikal te na taj način pojačava njezino djelovanje (5).

Nakon uspješne kolonizacije i preživljavanja, bakterija izaziva bolest. Glavni činitelji nastanka bolesti su jačina i distribucija izazvane upale. *H. pylori* direktno oštećuje sluznicu želuca domaćina produkcijom ureaze, oslobađanjem različitih hemolizina, citotoksina (vakuolizirajući citotoksin VacA) i lipopolisaharida. Oštećenja nastaju i putem indukcije medijatora upalne reakcije želučane sluznice; imunološki odgovor domaćina počiva na povećanoj produkciji citokina te posljedično migraciji i aktivaciji monocita i fagocita (3).

1.1.4. DIJAGNOSTIKA *H. PYLORI*

Dijagnostički postupci mogu biti invazivni i neinvazivni. Odabir dijagnostičkog postupka ovisi primarno o dva čimbenika, starosti i vrsti simptoma. Ukoliko se radi o pacijentima starijim od 45 godina i pacijentima s alarmantnim simptomima, prema smjernicama Maastricht IV, potrebno je koristiti pristup „endoskopiraj i liječi“ dakle, potrebno je učiniti endoskopski pregled i nakon toga liječiti ovisno o nalazu. Ukoliko se radi o mlađim pacijentima bez alarmantnih simptoma, sa simptomima dispepsije i blažih gastrointestinalnih poremećaja, koristi se pristup „testiraj i liječi“ (2).

Endoskopski pregled želuca i dvanaesnika je invazivni postupak. Prilikom endoskopskog pregleda uzimaju se biopsijski uzorci sluznice želuca za histologiju i izolaciju te se rade brzi ureazni testovi za dokazivanje *H. pylori*. Prema zadnjim smjernicama prihvatljivi neinvazivni testovi su urea izdisajni test (UBT) i test antigena u stolici, dok je serološki test prikladan samo za bolesnike koji nisu prethodno testirani niti liječeni (10). UBT test je pouzdan i jednostavan. Temelji se na (13C) ureji, noviji testovi koriste 14C. Osjetljivost testa je 88 – 95%, specifičnost 95 – 100%, a pouzdanost 95%. Kako bi se izbjeglo dobivanje lažno negativnog nalaza, pacijenti moraju biti bez terapije antibioticima barem 4 tjedna te bez inhibitora protonske pumpe 2 tjedna prije testiranja. UBT test se provodi i za dokazivanje infekcije i za procjenu uspješnosti eradikacijske terapije. Test antigena *H. pylori* je manje pouzdan u odnosu na UBT test. Osjetljivost ovog testa je 94%, a specifičnost 92%, kao i kod urea

izdisajnog testa, potrebna su 4 tjedna od završetka terapije i 2 tjedna nakon završetka terapije inhibitorom protonske pumpe (1).

1.1.5. LIJEČENJE INFEKCIJE BAKTERIJOM *H. PYLORI*

Izbor terapije treba biti vođen primarno razinom osjetljivosti antibiotika, protokol mora biti što jednostavniji, ekonomski isplativ te dobro podnošljiv kako bi se što bolje proveo. Uspješnost eradikacijske terapije ovisi o nekoliko čimbenika. U prvom redu je izbor lijekova koji se koristi u terapijskoj shemi, antibiotska rezistencija *H. pylori* te suradljivost pacijenata koja je proporcionalno vezana uz nuspojave lijeka. U prvoj liniji (Slika 4.) preporučuje se standardna trojna terapija i sekvencijska terapija.

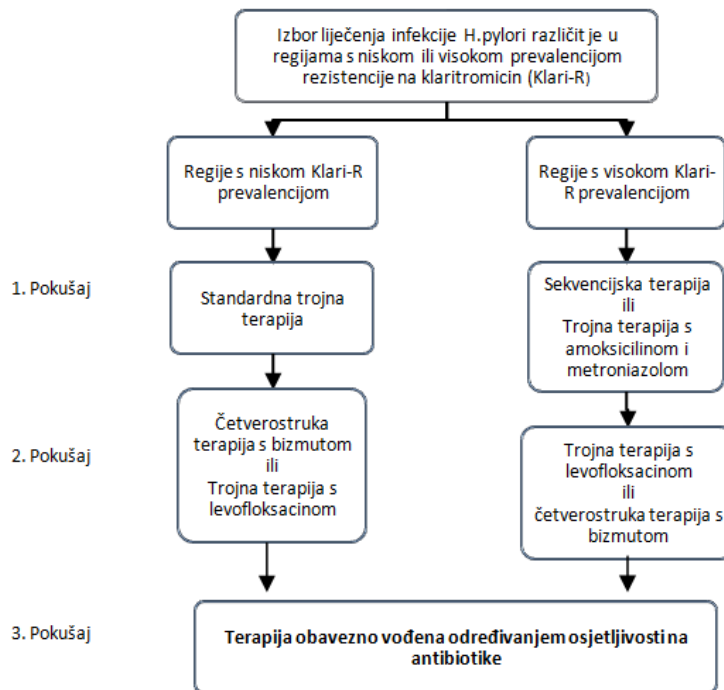
Standardna trojna terapija uključuje uzimanje protusekrećijskog lijeka, inhibitora protonske pumpe (IPP), (omeprazol 2 x 20 mg, pantoprazol 2 x 40 mg ili lansoprazol 2 x 30 mg), te jedne od ovih triju kombinacija antibiotika:

- 1) klaritromicin (2 x 250 mg) i metronidazol (2 x 400 mg) ili tinidazol (2 x 500 mg)
- 2) klaritromicin (2 x 500 mg) i amoksicilin (2 x 1000 mg)
- 3) amoksicilin (2 x 1000 mg) i metronidazol (2 x 400 mg) ili tinidazol (2 x 500 mg)

Obzirom na visoki stupanj primarne rezistencije *H. pylori* na klaritromicin, u Hrvatskoj više od 20%, ne preporučuje se kombinacija s klaritromicinom, ujedno, obzirom na sve veću rezistenciju na metronidazol preporučuje se trajanje trojne terapije produžiti sa 7 na 10 – 14 dana.

Sekvencijska terapija, koja se pokazala nešto učinkovitija, uključuje primjenu inhibitora protonske pumpe 5 dana uz amoksicilin, potom slijedećih pet dana inhibitor protonske pumpe uz klaritromicin i metronidazol/tinidazol (1). Novija analiza 15 kliničkih ispitivanja na ukupno 1805 pacijenata pokazala je da sekvencijska terapija pokazuje signifikantno bolji učinak eradikacije u odnosu na standardnu trojnu terapiju. Sve analizirane studije provedene su u Italiji te je stoga potrebno napraviti daljnja ispitivanja s ciljem potvrde rezultata na globalnoj razini (11).

Nakon neuspjeha prve linije terapije, trojne ili sekvencijske, preporučuje se koristiti četverostruku terapiju s bizmutom (IPP + metronidazol + tetraciklin + bizmut) u trajanju od 10 dana ili IPP trojnu terapiju s levofloksacinom (IPP + levofloksacin+amoksicilin/metronidazol) (1).



Slika 4. Izbor liječenja *H. pylori* infekcije u regijama s niskom i visokom prevalencijom rezistencije na klaritromicin (Klari-R) (1).

1.2. PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

1.2.1. PROCES INDUKCIJE UPALE I OKSIDATIVNOG STRESA

H. pylori ima nekoliko čimbenika virulencije koji određuju intenzitet bolesti koju izaziva. Gastrične epitelne stanice su njeni primarni cilj. Općenito gledano svi faktori, različitim mehanizmima, induciraju medijatore upale te dovode do oštećenja epitelnih stanica i sluzi. Najvažniji faktor je CagA protein, marker patogenosti. Upravo sojevi *H. pylori* koji su pozitivni na ovaj protein uzročnici su intenzivnije upale i povećanog stupnja rizika od nastanka ulkusa i karcinoma. CagA odgovoran je za izuzetno veliki broj promjena u samoj signalizaciji što uvelike utječe na fiziologiju stanice domaćina. CagA je također, uz ostale mehanizme, povezan s povećanom produkcijom IL-8. Vakuolizirajući toksin A (VacA) odgovoran je za stvaranje brojnih vakuola u epitelnim stanicama želuca. Proteini ovog toksina vežu se na liposome i podliježu oligomerizaciji kako bi stvorili pore. VacA ulazi i u mitohondrijske membrane što uzrokuje poremećaj u funkciji mitohondrija i posljedično apoptozu. VacA također narušava funkciju barijere epitelnih stanica te na taj način omogućava ispuštanje bitnih nutrijenata poput nikla, željeza i aminokiselina, koji doprinose boljem rastu same *H. pylori*. Ujedno inhibira proliferaciju epitelnih stanica i stimulira oslobađanje pepsinogena. Upalni odgovor pokreće se aktivacijom neutrofila, B i T limfocita, plazma stanica i makrofaga što također dovodi do oštećenja epitelnih stanica. Gastrične epitelne stanice aktiviraju prirodni imunitet putem aktivacije Toll like receptora (TLR). Unatoč tome što su lipopolisaharidi (LPS) aktivatori TLR-4, LPS koje stvara *H. pylori* signaliziraju i putem TLR-2. LPS povećavaju produkciju IL-12 i IL-18 što je usko vezano uz kronični upalni proces. Neutrofil aktivirajući protein (HP-NAP) regrutira neutrofile i monocite te stimulira produkciju IL-12 i IL-23, odgovornih za imunološki posredovani upalni proces (12).

Direktno oštećenje epitelnih stanica i sluzi nastaje zbog nekoliko čimbenika. Djelovanjem ureaza, amonijev ion koji nastaje kao produkt razgradnje ureje može direktno oštetiti epitelne stanice. Amonijev ion stupa u reakciju s hipoklornom kiselinom (HOCl) te se stvara kloramin (NH_2Cl) koji

slobodno ulazi u membranu i uzrokuje oksidaciju intercelularnih komponenti. Pokazalo se da je *H. pylori* otporna na antibakterijsko djelovanje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS), a upravo zbog dugotrajne prisutnosti bakterije proizvodnja ROS dovodi do indukcije oksidativnog stresa sluznice želuca što dovodi do oštećenja proteina, DNK te polinezasićenih masnih kiselina. Do oštećenja epitelnih stanica dolazi i zbog lipidne peroksidacije posredovane reaktivnim kisikovim spojevima (13). Djelovanje fosfolipaza i mucinaza također dovodi do oštećivanja epitelnih stanica i sluzi. Pojava hipokloridije ili hiperkloridije događa se djelovanjem N-metil-histamina agonista H3 i H2 receptora. Za razvoj bolesti vrlo je važna mogućnost induciranja medijatora upalne reakcije želučane sluznice. Bakterija *H. pylori* uzrokuje i sistemski i sluznični humoralni odgovor, ali ta protutijela ne dovode do eradikacije infekcije, već doprinose oštećenju tkiva (5).

Obzirom da je *H. pylori* infekcija široko rasprostranjena i da može dovesti do nastanka malignih bolesti gastrointestinalnog sustava, a liječenje infekcije nije u potpunosti učinkovito, provode se istraživanja s ciljem pronalaska sredstva koje bi pomoglo kod eradikacije bakterije. Otvorena je mogućnost primjene probiotika kao adjuvansa u terapiji eradikacije, primjerice bakterije roda *Lactobacillus* ili *Saccharomyces boulardii* no potrebno je detaljnije istražiti imaju li eradikacijski potencijal ili potpomažu smanjenju nuspojava koje izaziva standardna eradikacijska terapija lijekovima (2).

1.2.2. FUNKCIJSKA DISPEPSIJA

Dispepsija je poremećaj u funkciji gornjeg dijela gastrointestinalnog sustava koji traje više od 3 mjeseca. Dispepsiju karakterizira skupina simptoma; bol ili neugoda u gornjem dijelu trbušne šupljine, napuhnutost, brzo zasićenje hranom, postprandijalna punoća, podrigivanje, regurgitacija, osjećaj nagrizanja ili pečenja, gubitak apetita. Simptomi dispepsije javljaju se čak i u vrijeme gladovanja. Funkcijska dispepsija jedan je od najčešćih razloga za početak samoliječenja u gastroenterološkim indikacijama. U slučajevima kada *H. pylori* infekcija nije dokazana primjenjuje se

terapija s ciljem regulacije želučane kiselosti; antacidima, antagonistima H₂ receptora ili inhibitorima protonске pumpe (10).

Veliki broj pacijenata inficiranih s *H. pylori* ima simptome funkcijske dispepsije. Povezanost *H. pylori* infekcije i funkcijske dispepsije nije nedvojbeno potvrđena, međutim, pokazalo se da je eradikacija *H. pylori* učinkovita u dugotrajnom suzbijanju simptoma dispepsije (2).

Simptomi dispepsije učinkovito se smanjuju primjenom dijetoterapijskih mjera. Poznato je da unos konzervirane hrane, hrane bogate masnoćama i začinima te alkohola pogoršava simptome dispepsije. Uz izbjegavanje navedene hrane preporučuje se polako žvakanje hrane i ne konzumirati obilne obroke (14).

1.2.3. GASTRITIS

Gastritis je općenito prisutan kod osoba inficiranih s *H. pylori*. Akutni gastritis nastupa vrlo brzo nakon inicijalne infekcije i često je praćen simptomima dispepsije i mučnine. Akutni oblik zahvaća cijeli želudac i u većini slučajeva dolazi do hiposekrecije solne kiseline. Dolazi do infiltracije neutrofila što dovodi do oštećenja sluznice čemu doprinose i reaktivni kisikovi spojevi. Akutni oblik uglavnom prelazi u kronični oblik uglavnom bez posebnih pratećih simptoma. Kronični gastritis može biti predominantno antralnog oblika, korpusni ili difuzni. Gotovo svi bolesnici pozitivni na *H. pylori* imaju gastritis u području antruma želuca. Terapija eradikacije *H. pylori* dovodi do izlječenja gastritisa. Proces razvoja kroničnog gastritisa je dug. Što dulje traje *H. pylori* infekcija to je vjerojatniji razvoj bolesti u smjeru pojave peptičnog ulkusa ili zloćudnih bolesti želuca (1, 3, 12).

Uz *H. pylori* infekciju i neuravnotežena prehrana može biti čimbenik nastanka bolesti. Obzirom da se kod gastritisa radi o dugotrajnoj upali, uglavnom hiposekreciji kiseline te produkciji ROS, promjenom prehrambenih navika i uvođenjem određenih namirnica može se ublažiti tijek bolesti te djelovati na infekciju bakterijom *H. pylori*.

1.2.4. PEPTIČKI ULKUS

Peptički ulkus nastaje zbog oštećenja sluznice gornjeg probavnog sustava pod utjecajem pepsina i želučane kiseline. Simptomi koji prate ulkusnu bolest su pojava boli žarenja u gornjem i srednjem dijelu trbušne šupljine, može se pojaviti gubitak apetita, mučnina, žgaravica i nepodnošenje određenih vrsta hrane. Dijagnoza se postavlja endoskopskim pregledom. Oštećenju sluznice doprinosi i konzumacija alkoholnih pića i pušenje, a glavni vanjski čimbenici nastanka bolesti su *H. pylori* infekcija te uzimanje nesteroidnih antireumatskih lijekova i acetilsalicilne kiseline (15). Danas se sve više ističe izloženost stresu kao jakom čimbeniku nastanka bolesti. *H. pylori* infekcija pokazala se glavnim čimbenikom za 70 – 85% želučanih ulkusa i 90 – 95% duodenalnih ulkusa (12). Liječenje ulkusne bolesti provodi se prema prije navedenim smjernicama bilo standardnom trojnom ili sekvencijskom terapijom. Uspješna eradikacija u najvećem broju slučajeva dovodi do nestanka kliničkih simptoma te cijeljenja sluznice.

Cilj terapijskog pristupa, uz eradikaciju *H. pylori* je i smanjenje kiselosti u želucu kako bi se spriječio nastanak novih lezija. Uz primjenu protusekretornih lijekova potrebno je prilagoditi i prehrambene navike. Potrebno je izbjegavati namirnice koje povećavaju kiselost u želucu kao što su žestoka i gazirana pića, kava, začinjena i izrazito masna hrana. Preporučuje se unos namirnica s manje masnoće (nemasno mlado meso, bijele ribe, obrano mlijeko), unos masnoća biljnog porijekla, voće koje nije kiselo te kuhano i pasirano povrće (14).

1.2.5. KARCINOM ŽELUCA

Karcinom želuca je multifaktorijalna bolest. Točan uzrok nastanka bolesti još uvijek nije poznat. Kao čimbenici rizika spominju se okolišni i nutritivni čimbenici. *H. pylori* infekcija je dokazano jedan od osnovnih čimbenika nastanka karcinoma želuca. Pretpostavke evolucije karcinoma želuca uključuju nekoliko koraka: postojanje kroničnog gastritisa induciranog *H. pylori* infekcijom, kronični gastritis kroz dulji vremenski period prelazi u kronični atrofični gastritis, uzrokuje nastanak metaplastičnih i displastičnih promjena, te krajnje dovodi do nastanka adenokarcinoma želuca.

Terapija eradikacije djeluje preventivno na nastanak karcinoma želuca ukoliko je provedena prije nego što su se pojavile lezije. Dokaz da *H. pylori* infekcija ne može biti isključivi uzrok nastanka karcinoma jest činjenica da od ukupnog broja oboljelih 1% razvije karcinom želuca. Međutim, prisutna je u 71 – 95% slučajeva karcinoma želuca (16).

Iako su podaci još uvijek nedovoljno istraženi čini se da su prehrabene navike povezane sa stupnjem rizika od nastanka karcinoma želuca. Poznato je da prehrana i životne navike mogu utjecati na razvoj karcinoma želuca. Unos izrazito slane i konzervirane hrane, N-nitrozo spojeva (npr. dimljeno meso), nedovoljan unos voća i povrća te pušenje i unos alkohola. Smanjeni rizik od nastanka karcinoma želuca povezan je uz konzumaciju vlakana, svježeg voća i povrća dok su unos rafiniranih ugljikohidrata, zasićenih masti i kolesterola imali nepovoljan učinak. Unos vitamina C potencijalno može doprinijeti smanjenju rizika. Općenite preporuke u prevenciji karcinoma želuca, uz pravovremenu eradikaciju bakterije *H. pylori*, uključuju promjenu prehrane; povećanje unosa voća i povrća, promjene nezdravih životnih navika, prestanak pušenja i konzumacije alkohola te povećanje tjelesne aktivnosti. Upravo mediteranski tip prehrane uključuje veći unos voća i povrća, žitarica, orašastih plodova te riba i školjaka. Karakteristika ove prehrane je i umjeren unos vina (uglavnom crnog vina), smanjeni unos crvenog mesa i mesnih prerađevina, konzumacija fermentiranih mliječnih proizvoda te unos masti iz biljnih izvora (maslinovo ulje). Provedena prospektivna kohortna studija pokazala je pozitivan učinak mediteranske prehrane na smanjenje rizika nastanka karcinoma želuca. Preventivni učinak bio je veći ukoliko se u većoj mjeri pridržavalo smjernicama mediteranske prehrane (17).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog teorijskog rada bio je:

Prikupiti što više podataka i rezultata studija o utjecaju probiotika i hrane na infekciju bakterijom *H. pylori* te smanjenju rizika od nastanka bolesti gornjeg gastrointestinalnog sustava;

Na temelju prikupljenih podataka opisati moguće mehanizme djelovanja probiotika i hrane te njihove učinke na *H. pylori* infekciju;

Donijeti zaključke o tome koliki je doprinos probiotika i hrane u suzbijanju *H. pylori* infekcije te potencijal u smanjenju rizika od nastanka bolesti gornjeg gastrointestinalnog sustava vezanih uz *H. pylori* infekciju.

3. MATERIJALI I METODE

Podaci koji se navode u radu, potječu iz znanstvenih preglednih članaka i originalnih studija. Kao materijal na temelju kojeg je pisan ovaj teorijski rad poslužile su *in vitro* studije, studije na animalnim modelima te studije provedene na zdravim dobrovoljcima s potvrđenom *H. pylori* infekcijom.

3.1. MEHANIZAM DJELOVANJA KOMPONENTI HRANE NA *H. PYLORI*

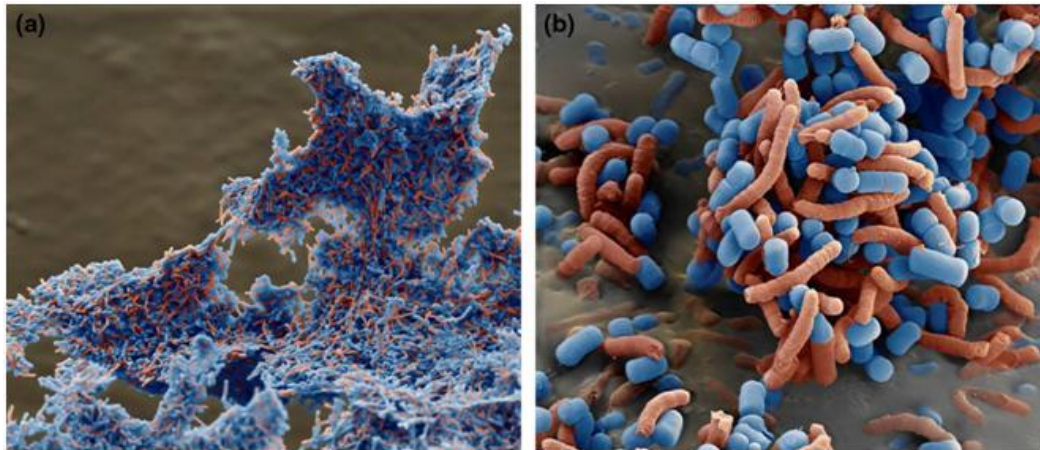
3.1.1. PROBIOTICI

Prema definiciji probiotici su živi mikroorganizmi koji uneseni u organizam u adekvatnim količinama imaju povoljne učinke na zdravlje domaćina. Najčešće upotrebljavani su rodovi *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacillus* i *Saccharomyces*. Probiotici mogu djelovati na *H. pylori* imunološkim i neimunološkim mehanizmima. Probiotici mogu modificirati imunološki odgovor tako što stupaju u interakciju s epitelnim stanicama te moduliraju lučenje protuupalnih citokina. *In vitro* ispitivanja na vrstama roda *Lactobacillus* (*L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*) su pokazala da određeni probiotički sojevi smanjuju intenzitet upale tako što smanjuju sekreciju IL-8, putem inaktivacije Smad 7, NF- κ B te TLR4 puta. Animalne studije su pokazale da se nakon uzimanja probiotika smanjuje razina specifičnih IgG antitijela na *H. pylori* infekciju i intenzitet upale. Unos probiotika inducira lokalni IgA što dovodi do stabilizacije sluznice želuca i jačanja njezine zaštitne funkcije. Neimunološki mehanizmi djelovanja probiotika uključuju lučenje antimikrobnih sastojaka, pozitivnu kompeticiju za mjesta vezanja *H. pylori*, stimulaciju produkcije mucina i stabilizaciju mukozne barijere probavnog sustava. Određene vrste probiotika luče antimikrobne sastojke poput bakteriocina, mliječne kiseline te vodikovog peroksida. Mliječna kiselina uz svoj antimikrobni učinak snižava pH vrijednost želučane kiseline te potencijalno inaktivira ureazu. Učinkovitost na *H. pylori* infekciju se značajno razlikuje među vrstama i sojevima. Primjerice *L. johnsonii* La 1 unatoč tome što luči jednake količine mliječne kiseline ne pokazuje inhibitorni učinak na bakteriju *H. pylori*. Određeni sojevi luče bakteriocine npr. *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730. Obzirom da je vezanje *H. pylori* na

epitelne stanice želuca ključan čimbenik u daljnjem razvoju infekcije interesantna je mogućnost pozitivne kompeticije probiotika na mjesta vezanja *H. pylori*, npr. *L. reuteri* je jedan od sojeva koji pokazuju sposobnost ovakvog djelovanja. Pozitivna kompeticija je uglavnom nespecifična, obzirom da probiotici mogu spriječiti adheziju velikog broja patogenih bakterija. Drugačiji način sprječavanja vezanja pokazan je na primjeru *S. boulardii* koji posjeduje neuramidaze koje uklanjaju površinski vezanu sijaličnu kiselinu te tako onemogućuje vezanje *H. pylori*. Određene vrste probiotika pokazale su sposobnost stimulacije sekrecije mucina (*L. rhamnosus* i *L. plantarum*) (18, 19).

Delgado i sur. (20) ispitivali su probiotičke i tehnološke značajke 5 vrsta bakterija roda *Lactobacillus*. Od ukupno 19 sojeva pokazalo se da dva soja *L. reuteri* djeluju antibakterijski na *H. pylori* te pokazuju dobru antioksidativnu aktivnost i otporni su na niski pH želuca.

Novije ispitivanje (21) pokazalo je drugačije djelovanje probiotika u odnosu na prije navedeno. Naime, *in vitro* je pokazana sposobnost specifične koagregacije inaktiviranog oblika *L. reuteri* DSM 17648 s *H. pylori*. Mikroskopska analiza nastalih koagregata prikazana je na slici 5. Specifična mjesta vezanja ravnomjerno su raspoređena na površini bakterijskih stanica DSM 17648 dok kod *H. pylori* mjesta vezanja ne postoje na bičevima. *L. reuteri* DSM 17648 pokazuje visoku specifičnost vezanja za *H. pylori*, u testovima nije pokazao sposobnost vezanja na druge bakterije (Tablica 1.). Nastali koagregati se nepromijenjeni izlučuju iz organizma te se smanjuje ukupno bakterijsko opterećenje. *L. reuteri* DSM 17648 pokazuje jednaku sposobnost koagregacije u liofiliziranom i u praškastom obliku dobivenom sušenjem raspršivanjem.



Slika 5. Snimka koagregata *L. reuteri* DSM 17648 (plavo obojano) i *H. pylori* (crveno obojane) dobivene pretražnom elektronskom mikroskopijom, (a) povećanje 1800x; (b) povećanje 11000 puta (21).

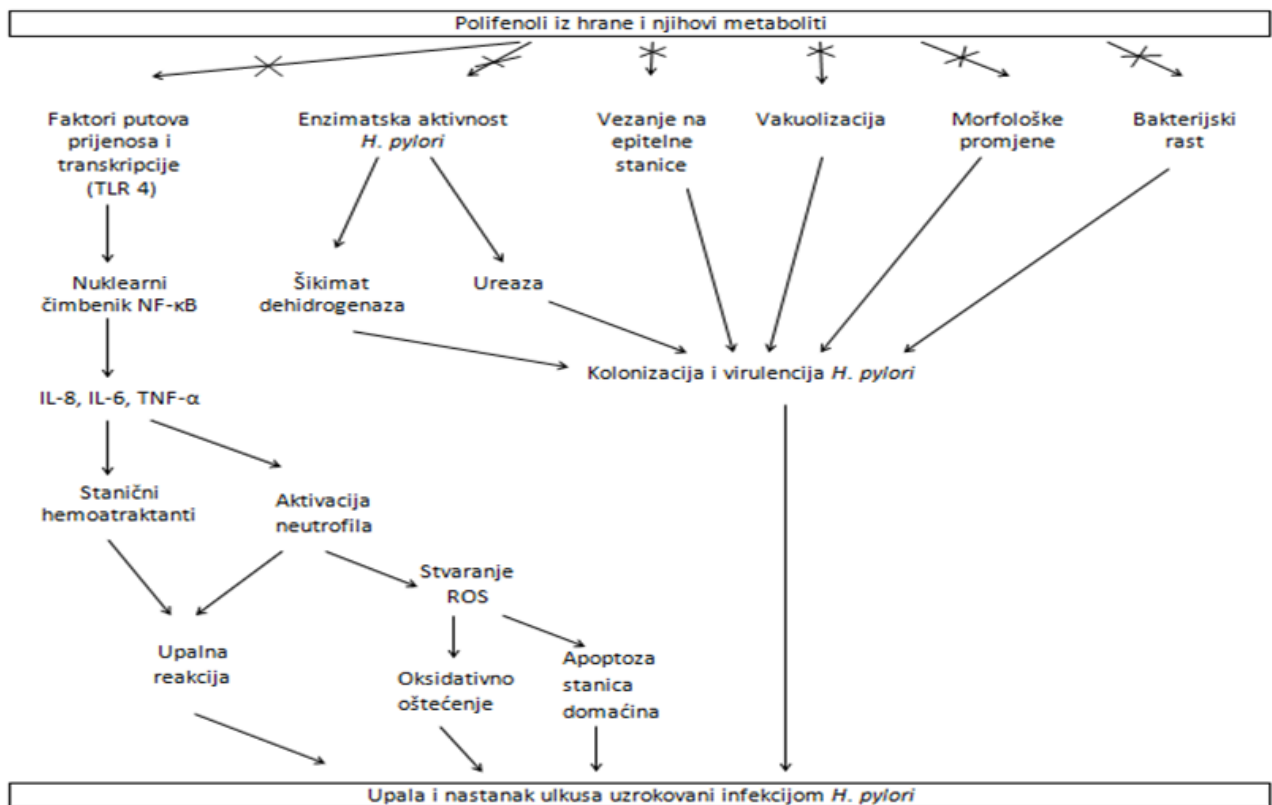
Tablica 1. *L. reuteri* DSM 17648 pokazuje sposobnost koagregacije s različitim tipovima i vrstama *Helicobacter*, ali ne i s *Campylobacter* niti predstavnicima komensalne flore (21).

Sojevi	Koagregacija s <i>L. reuteri</i> DSM 17648
<i>H. pylori</i> DSM 9691, tip I	+
<i>H. pylori</i> DSM 10242, tip I	+
<i>H. pylori</i> DSM 21031, tip I	+
<i>H. pylori</i> CUCG 19106, tip II	+
<i>H. heilmannii</i> ATCC 49286, tip 1	+
<i>H. heilmannii</i> DSM 24751, tip 2	+
<i>H. canis</i> CUCG 32756	+
<i>Campylobacter jejuni</i> DSM 4688	-
<i>Streptococcus salivarius</i> DSM 20560	-
<i>Clostridium leptum</i> DSM 753	-
<i>Clostridium saccharolyticum</i> DSM 2544	-
<i>Bacteroides fragilis</i> DSM 2151	-
<i>Escherichia coli</i> DSM 30083	-

3.1.2. POLIFENOLI

Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka opće prisutni u voću i povrću te predstavljaju integralni dio ljudske prehrane. Ovisno o kemijskoj strukturi mogu biti flavonoidi i ne-flavonoidi. Flavonoidi su polifenolni spojevi koji obuhvaćaju petnaest ugljikovih atoma raspoređenih unutar dva aromatska prstena povezanih s piranskim prstenom. Flavonoidi su podijeljeni u više podrazreda; flavoni, flavonoli, flavan-3-oli, izoflavoni, flavanoni i antocijanidini, antocijanini. Ne-flavonoidi su jednostavnije građe od flavonoida i sastoje se od jednog benzenskog prstena. Glavni predstavnici su

fenolne kiseline, stilbeni i lignani i hidroksicinaminska kiselina. Fenolni spojevi koji imaju značajnu farmaceutsku vrijednost su: galna kiselina, elaginska kiselina, katehini, ferulična kiselina, apigenin, kvercetin, gingerol, kempferol, miricetin, resveratrol, rutin, narigenin i antocijanidin. Sve je više dokaza o pozitivnim učincima polifenola na zdravlje. Polifenoli imaju terapijski učinak na više razina. Djeluju na razne molekularne mehanizme (Slika 6.) kao što je regulacija nuklearnih transkripcijskih faktora (NF- κ B), djelovanje na mitogenom aktivirane proteinske kinaze (MAPK), interferira sa TLR4 signalnim putovima. Djeluju direktno antioksidativno kao hvatači slobodnih radikala, prekidaju reakcije nastanka slobodnih radikala, reduciraju perokside ili indirektno tako što aktiviraju antioksidativne enzime poput superoksid-dismutaze (22).



Slika 6. Sažetak mogućih bioloških mehanizama polifenola iz hrane na upalu i nastanak ulkusa uzrokovanih *H. pylori* infekcijom (22)

3.1.2.1 NAJZNAČAJNIJI POLIFENOLI

Resveratrol pripada skupini stilbena. Najčešće se nalazi u crnom vinu, bobičastom voću, pokožici grožđa te kikirikiju, a vjerojatno je jedan od poznatijih polifenola upravo zbog prisutnosti u crvenom vinu. Smatra se izuzetno jakim antioksidansom, antikancerogenom i anti-aging faktorom. Protektivno djelovanje na sluznicu želuca kod peptičkog ulkusa istraživano je *in vitro* studijama. Resveratrol inhibira ekspresiju i aktivaciju nuklearnih transkripcijskih faktora (NF- κ B) i intracelularnih transkripcijskih enzima MAPK. Dokazana je terapijska i protektivna uloga resveratrola na animalnim modelima s ulkusom želuca, odnosno značajno antioksidativno djelovanje i suprimiranje upalnog faktora TNF- α te značajna protektivna uloga na sluznicu želuca indukcijom NO sintetaze. Resveratrol djeluje antibakterijski na *H. pylori* inhibicijom aktivnosti ureaze i smanjenjem virulencije, također je pokazano da djeluje inhibitorno i na CagA pozitivne sojeve *H. pylori*. Štiti sluznicu želuca tako što djeluje protuupalno inhibicijom produkcije IL-8 te antioksidativno smanjivanjem stvaranje ROS-a. Interesantno je da resveratrol potencijalno ima ključnu ulogu u prevenciji karcinoma želuca. *H. pylori* izolirana s biotata stanica karcinoma želuca pokazuje veću osjetljivost na antimikrobno djelovanje resveratrola u odnosu na izolate s biotata stanica kroničnog gastritisa (23). Protektivna uloga kod karcinoma želuca još uvijek nije potpuno istražena, čini se da inhibira proliferaciju stanica te posreduje u procesu apoptoze. Antibakterijski i protektivni učinak resveratrola usko su povezani uz primijenjenu dozu. Ispitivanje na animalnom modelu s miševima pokazalo je da u koncentraciji od 40 mg/kg na dan pokazuje inhibitorni učinak na razvoj karcinoma želuca. Bioraspoloživost resveratrola je izrazito niska te se provode ispitivanja na koji način postići doze u oralnoj primjeni koje će imati identičan učinak kod ljudi (24).

Galna kiselina se prirodno nalazi u povrću i voću, npr. mangu, jagodama, soji, ananasu i đumbiru. Tradicionalno se upotrebljava kod peptičkog ulkusa. Bioraspoloživost ove fenolne kiseline je izrazito mala (50 mg oralno / 1.8 μ mol/L u serumu). Djeluje snažno antioksidativno. Smanjuje upalu inhibiranjem lučenja proupalnih citokina i moduliranjem upalnih reakcija. Djeluje antioksidativno hvatajući slobodne radikale i sprječava oštećenja uzrokovana oksidacijom. Dosadašnja ispitivanja na

animalnim modelima pokazuju da učinkovito smanjuje oštećenja sluznice želuca inducirane aspirinom i indometacinom. Dokazan je antisekretorni učinak te stimulacija prirodnih antioksidativnih komponenti (SOD). Zabilježena je i mogućnost induciranja vaskularizacije i faktora tkivnog rasta kojima potiče cijeljenje oštećene želučane sluznice (22).

Kurkumin je glavni sastojak kurkume (*Curcuma longa*), danas je izrazito popularan u dodacima prehrani i pripisuju mu se brojni pozitivni učinci na zdravlje. Općenito gledano posjeduje izrazitu antioksidativnu i protuupalnu aktivnost. Dosadašnja ispitivanja (22) su pokazala da ima pozitivan učinak na smanjenje lezija želuca induciranih indometacinom tako što smanjuje produkciju ROS, peroksidaciju lipida te akumulira endogeni vodikov peroksid. Poticanjem ekspresije matriks metalo proteinaze 2 (MMP-2), te poticanjem angiogeneze i kolagenizacije djeluje gastroprotektivno i stimulira proces cijeljenja želučane sluznice. *In vitro* ispitivanja potvrdila su antibakterijski učinak (minimalna inhibitorna koncentracija 5 µg/mL do 50 µg/mL) na *H. pylori*. Na animalnim modelu (25) dokazano je da pokazuje inhibitorni učinak na šikimat dehidrogenazu te tako sprječava sintezu tvari (aminokiseline, folna kiselina, ubikinon) potrebnih za preživljavanje *H. pylori*.

Kvercetin je široko rasprostranjen u povrću, voću, čaju, vinu i medu. Jedan je od najzastupljenijih flavonoida u ljudskoj prehrani. Smatra se izrazito potentnim hvatačem slobodnih radikala. Dosada provedena ispitivanja (26) pokazuju pozitivne učinke kod peptičkog ulkusa. Kvercetin povećava aktivnost antioksidativnih komponenti (SOD), poput EGCG smanjuje infiltraciju neutrofila i aktivnost mijeloperoksidaze (MPO) te modulira lučenje želučane kiseline. Serumska koncentracija kvercetina unesenog hranom je relativno mala, no za razliku od resveratrola ta se koncentracija može povećati suplementacijom kvercetina.

Epigalokatehin galat (EGCG) je najzastupljeniji u zelenom čaju (*Camellia sinensis*). U ukupnom sadržaju EGCG je zastupljen otprilike 40%. Uz EGCG zeleni čaj sadrži i ostale polifenole; katehin, epikatehin, epikatehin galat, i epigalokatehin. EGCG ima brojne pozitivne učinke na zdravlje, djeluje jače antioksidativno od vitamina C i vitamina E. Dosadašnja ispitivanja (22) pokazala su da EGCG ima zaštitnu ulogu kod peptičkog ulkusa putem različitih mehanizama; smanjuje produkciju medijatora

upale, smanjuje infiltraciju neutrofila i aktivnost mijeloperoksidaze (MPO), smanjuje sintezu dušikovog oksida, te djeluje antisekretorno. EGCG djeluje i na *H. pylori*. Umanjuje oštećenja tkiva uzrokovana *H. pylori* infekcijom putem inhibicije TLR 4 puta te NF- κ B. Inhibira djelovanje ureaza te tako smanjuje aktivnost *H. pylori*.

3.1.2.2. POLIFENOLI IZ VOĆA

Jabuke (*Malus domestica*) su izvrstan izvor polifenola. Sadrže klorogensku kiselinu, flavonole (kvercetin), dihidrohalkone (florentin glukozid) i flavan-3-ole. Dosadašnja istraživanja su pokazala da stimuliraju antioksidativnu aktivnost sluznice želuca aktivacijom glutaciona. Polifenoli iz jabuke inhibiraju lipidnu peroksidaciju i reduciraju koncentraciju malonaldehida u sluznici želuca. Ekstrakt kore jabuke djeluje inhibitorno na rast *H. pylori*, također onemogućuje vezanje na epitelne stanice i inhibira vakuolizaciju. Na animalnom modelu pokazano je da smanjuje intenzitet upale vezane uz *H. pylori* infekciju (22).

Brusnica (*Vaccinium macrocarpon*) zahvaljujući velikom sadržaju flavonoidnih komponenti i fenolnih kiselina posjeduje značajan antioksidativni i protuupalni učinak. Primjena brusnice danas je izrazito raširena upravo zbog brojnih pozitivnih učinaka na zdravlje. Najzastupljeniji polifenol brusnice je kvercetin. Svježe sadrže 20 – 30 mg / 100 g. Sadrži i antocijanine, galaktozide i arabinozide cijanidina i peonidina. Antocijanini djeluju izrazito antioksidativno i protuupalno putem inhibicije aktivnosti ciklooksigenaze 1 i 2. Potencijalni antikancerogeni učinak pripisuje se proantocijanidinima što je dokazano *in vitro* ispitivanjima (27). Uglavnom se koristi kod urinarnih infekcija izazvanih bakterijom *Escherichia coli*, međutim, novija ispitivanja su usmjerena i u ispitivanje potencijala sprječavanja adhezije *H. pylori* na epitelne stanice želuca. Burger i sur. (28) su dokazali *in vitro* pokusom da sastojak visoke molekularne mase iz dijaliziranog soka brusnice sprječava vezanje *H. pylori* na sluznicu želuca.

3.1.3. FITOKEMIKALIJE SA SUMPOROM

Češnjak (*Allium sativum* L), poznat i kao bijeli luk, je univerzalni začim, ali i jedan od najčešće upotrebljavanih prirodnih lijekova. Češnjak sadrži više od 200 biološki aktivnih tvari, eterična ulja, vitamine (A, B1, B2 i C), minerale (kalij, željezo, sumpor, jod, kalcij, fosfor, selen), aminokiseline, enzime i alin. Češnjaku se pripisuju antibakterijska i antikancerogena svojstva. Komponente koje se smatraju odgovornim za navedene pozitivne učinke su alicin, koji nastaje metabolizacijom alina nakon mehaničkog oštećenja češnjaka i S-alil cistein. *In vitro* studije pokazale su antibakterijski učinak alicina na *H. pylori*, gdje je predloženi mehanizam navedenog djelovanja uključivao inhibiciju sinteze RNK (29). Novija istraživanja (30) ukazuju na protuupalni i antioksidativni učinak S-alil cisteina. *In vitro* testovi pokazuju da učinkovito inhibira nastanak upalnih putova koji uključuju TNF- α , ciklooksigenazu 2 (COX-2) i inducibilnu dušik-oksidad sintetazu (iNOS). U animalnim pokusima dokazano je da poboljšava proces cijeljenja kod peptičkog ulkusa.

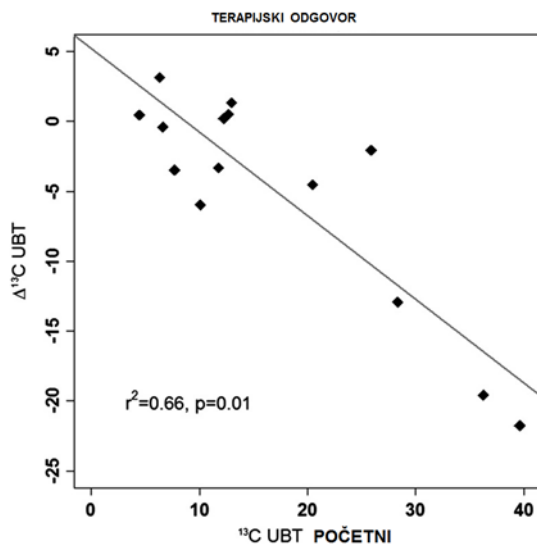
Brokula (*Brassica oleracea* var. *italica*) je namirnica bogata glukozinolatima, fenolima i C-vitaminom. Glukozinolati dominiraju u antikancerogenoj aktivnosti. Kod mehaničkog oštećenja biljnih stanica (npr. žvakanje) dolazi do hidrolize glukozinolata. Najproučavanija komponenta brokule koja nastaje hidrolizom glukorafanina je sulforafan. Najbolji izvor su mladi izdanci brokule. Sulforafanu se pripisuje antibakterijski i antikancerogeni učinak. Animalni model ispitivanja učinka sulforafana na miševima inficiranim *H. pylori* pokazao je protektivni učinak na sluznicu želuca te smanjenje upale izazvane *H. pylori* infekcijom. Primjena sulforafana u ovom slučaju je uzrokovala i smanjenje ukupnog bakterijskog opterećenja u želucu što dodatno doprinosi protektivnom učinku na sluznicu želuca (31). Fahey i sur. su *in vitro* (32) pokusima dokazali da sulforafan djeluje antibakterijski na *H. pylori*, a učinkovito antibakterijsko djelovanje pokazano je i na sojevima s rezistencijom na klaritromicin te metronidazol.

3.2. STUDIJE NA LJUDIMA

3.2.1. SAMOSTALNA PRIMJENA PROBIOTIKA KOD *H. PYLORI* INFEKCIJE

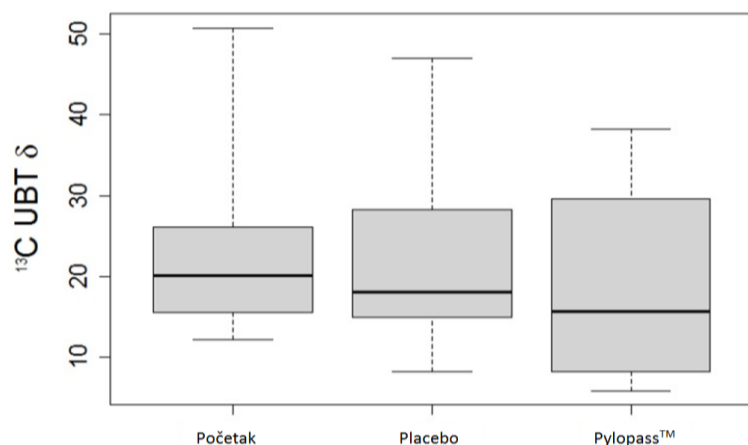
Primjena *L. reuteri* DSM 17648 ispitivana je u placebo kontroliranoj pilot studiji (21). U probiru za ulazak u studiju bilo je 128 ispitanika, 47 parova blizanaca i 34 pojedinca. Od ukupnog broja kod 27 ispitanika potvrđena je *H. pylori* infekcija UBT testom. U studiju je uključeno 6 parova blizanaca, oba pozitivna na *H. pylori*; 4 para sa samo jednim pozitivnim te 4 pojedinca. Testni proizvod s aktivnom komponentom, oblikovan u krutu tabletu za oralnu primjenu, sadržavao je liofilizirane bakterije soja DSM 17648. Primijenjena dnevna doza sadržavala je ukupno 2×10^{10} stanica. U skupini konkordantnih blizanaca provedeno je paralelno ispitivanje tijekom 14 dana. Kod pojedinaca je provedena jednostruko slijepo nerandomizirano ispitivanje ukriženog ustroja (cross over). Prvih 14 dana uključivalo je placebo fazu nakon čega je proveden drugi UBT test. Zatim je primijenjen aktivni proizvod tijekom narednih 14 dana. Treći UBT test proveden je 4 – 6 tjedana nakon završetka ispitivanja. Tijekom ispitivanja nije bilo promjena u stilu života kao ni promjena u prehranbenim navikama, te je bio zabranjen unos probiotika i brusnica. Rezultati su pokazali da primjena placeba nije imala signifikantnu promjenu rezultata UBT testa (Δ placebo -0.6 ± 5.3) dok je promjena kod primjene aktivnog preparata bila signifikantna (Δ verum -4.9 ± 7.8 , $p=0.026$ vs. placebo). Apsolutne vrijednosti UBT testa na početku ispitivanja, na kraju placebo primjene i na kraju primjene aktivnog preparata bili su 14.1 ± 9.9 , 12.7 ± 7.2 (ne signifikantni u odnosu na test kod uključivanja) 11.9 ± 5.9 (p vs test kod uključivanja 0.01; p vs placebo 0.03). Nakon primjene aktivnog sastojka kod većine ispitanika zabilježeno je smanjenje bakterijskog opterećenja *H. pylori*. Vrijednosti UBT testa nakon perioda bez uzimanja aktivnog preparata nisu signifikantno drugačije u odnosu na vrijednosti nakon uzimanja aktivnog preparata. Rezultati pokazuju veću učinkovitost u smanjenju bakterijskog opterećenja kod jače početne kolonizacije. Kod placebo skupine pokazani su slični učinci, što može ukazivati na placebo učinak na imunološki odgovor, ali rezultati su značajno slabiji u odnosu na aktivni preparat. Rezultati pokazuju signifikantno smanjenje ukupnog bakterijskog opterećenja

(Slika 7.) *H. pylori* nakon 2 tjedna uzimanja *L. reuteri* DSM 17648 kod zdravih dobrovoljaca s dokazanom *H. pylori* infekcijom.

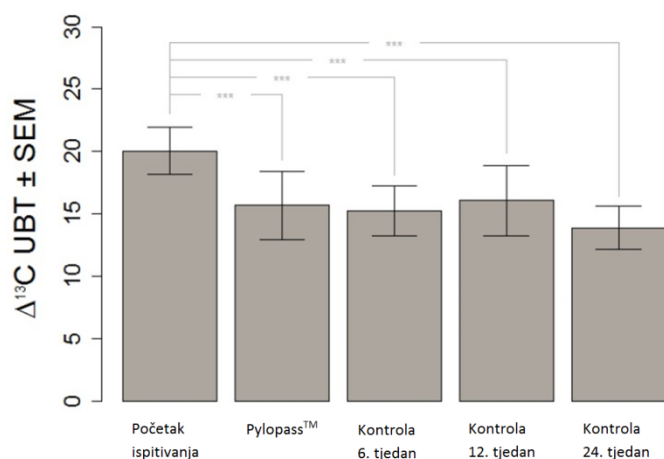


Slika 7. Linearna regresija između početnih vrijednosti i terapijskog odgovora (aktivni preparat); odgovor je značajno jači kod povećanog bakterijskog opterećenja na početku (21).

Jednostruko slijepa placebo kontrolirana studija ukriženog ustroja (cross over) provedena je na 22 zdrava dobrovoljca s dokazanom *H. pylori* infekcijom, bez drugih simptoma. Ispitivanje je provedeno s *L. reuteri* DSMZ 17648 (Pylopass™) u obliku tvrdih tableta za oralnu primjenu (33). U ispitivanju je sudjelovalo 5 muškaraca i 17 žena s pozitivnim UBT testom, bez prethodnog uzimanja eradikacijske terapije ili inhibitora protonske pumpe. Ispitanici su uzimali dnevnu dozu od 4 tablete 5×10^9 , dok je tableta s placeboom bila identična masom, veličinom, bojom i okusom. Nakon početnog UBT testa ispitanici su koristili placebo te nakon drugog UBT testa su dobili aktivni preparat tijekom 14 dana 2 puta na dan. Kontrole nakon trećeg UBT testa bile su 6., 12. i 24. tjedan nakon završetka primjene. Ispitivana je i sigurnost primjene. Obzirom na razlike u rezultatima početnog UBT testa za obradu rezultata korišten je medijan apsolutne vrijednosti UBT testa na početku ispitivanja, nakon uzimanja placeba i nakon uzimanja aktivnog preparata. Rezultati pokazuju signifikantno smanjenje bakterijskog opterećenja (Slika 8.). Rezultati testiranja (Slika 9.) nakon 6., 12. i 24. tjedna pokazuju produljeni učinak uzimanja *L. reuteri* DSMZ 17648. Nisu zabilježene nuspojave, promatrani parametri za ocjenu sigurnosti također su bili stabilni.



Slika 8. Apsolutne vrijednosti UBT testa na početku ispitivanja te nakon suplementacije placebo ili Pylopass™ (33).



Slika 9. Apsolutne vrijednosti UBT testa prije, nakon suplementacije Pylopass™ te tijekom kontrola (33).

Učinak *L. reuteri* ATCC 55730 (Reuterin, Noos) na smanjenje ukupnog bakterijskog opterećenja, smanjenje simptoma dispepsije i na eradikacijsku terapiju ispitan je u dvostruko slijepoj placebo kontroliranoj studiji (34). 40 ispitanika pozitivnih na *H. pylori* uzimali su jednu tabletu placebo ili *L. reuteri* ATCC 55730 (10^8 *L. reuteri* ATCC 55730) jednom dnevno, dva sata nakon jela, tijekom 28 dana. Placebo i aktivni preparat bili su u obliku tableta za žvakanje. Kod uključivanja u studiju svi ispitanici podvrgnuti su endoskopskom pregledu, UBT testu te testu antigena u stolici. Ispitanici su pri uključivanju pregledani te su uzeti u obzir simptomi gastrointestinalnih smetnji i njihov intenzitet. Svi ispitanici su bili pozitivni na *H. pylori*, bez većih razlika u endoskopskom i histološkom nalazu i kod

svih je endoskopski nalaz potvrdio kronični gastritis. Nakon 28 dana primjene placeba ili aktivnog preparata svi ispitanici su podvrgnuti UBT testu i testu antigena u stolici. Rezultati UBT pokazali su signifikantno smanjenje djelovanja ureaze u skupini koja je uzimala *L. reuteri*, 13C-UBT δ vrijednost se smanjila sa 33.8 ± 15 (95% CI: 26.8 – 40.0) na 27.3 ± 12.1 (95% CI: 21.6 – 33) ($p < 0.05$) dok u skupini na placebo nije bilo statistički signifikantne promjene ($p=0.8$). U postotku 13C-UBT vrijednost se smanjila oko 10% kod 13 od 20 ispitanika (65%) kod uzimanja *L. reuteri* i kod 6 od 20 ispitanika (30%) kod uzimanja placebo ($p < 0.03$). Test antigena u stolici također je pokazao sličan trend signifikantnog smanjenja vrijednosti u skupini *L. reuteri*, 10% - tno smanjenje kod 14 od 20 ispitanika u odnosu na 5 od 20 u skupini placebo (65% u odnosu 25%; $p < 0.004$). U skupini *L. reuteri* zabilježeno je smanjenje simptoma gastrointestinalnih smetnji, dok kod placebo skupine nije bilo promjena. Također je zabilježena manja pojavnost novih simptoma ili pogoršanja postojećih kod primjene *L. reuteri*. Potpuna eradikacija *H. pylori* nije provedena sa samostalnom primjenom *L. reuteri*. U obje skupine nije bilo signifikantne razlike u učinkovitosti desetodnevne sekvencijske terapije uvedene nakon 28 dana primjene *L. reuteri* ili placebo.

3.2.2. PROBIOTICI KAO ADJUVANTNA TERAPIJA KOD STANDARDNE TERAPIJE ERADIKACIJE *H. PYLORI*

Randomizirana, dvostruko slijepa, placebo kontrolirana paralelna klinička studija (35) provedena je u svrhu dokazivanja eradikacijske učinkovitosti dodatka prehrani s *L. reuteri* ProGastria (kombinacija *L. reuteri* DSM 17938 (stariji naziv ATCC 55730) i *L. reuteri* ATCC PTA 6475 u kombinaciji s inhibitorom protonske pumpe bez uvođenja antibiotika. Također je ispitivan i potencijal zadržavanja eradikacijskog statusa 2 mjeseca nakon prestanka uzimanja probiotika te učinkovitost na smanjenje intenziteta gastrointestinalnih tegoba. U studiju je bilo uključeno 55 zdravih ispitanika sa simptomima dispepsije bez prethodnog provođenja eradikacijske terapije. Kod uključivanja u studiju prisustvo *H. pylori* dokazivano je UBT testom, testom antigena u stolici te brzim ureaza testom kod endoskopskog pregleda, također su uzeti u obzir prisutni simptomi gastrointestinalnih tegoba te

njihov intenzitet. Pacijenti za uključanje morali su imati barem jedan pozitivan test. Ispitanicima su dodijeljeni omeprazol 2 x 20 mg / dan + 1 tableta *L. reuteri* ProGastria na dan (2×10^8) ili 1 tableta placebo. Ispitivanje je trajalo 28 dana. Tjedan dana nakon završetka uzimanja preparata pacijenti su podvrgnuti testiranju na *H. pylori* testom antigena u stolici. Ukoliko je test bio pozitivan, ordinirana je sekvencijska terapija u trajanju od 10 dana. Na 90. dan ponovno je ispitivana prisutnost *H. pylori* testom antigena u stolici. Tijekom uzimanja sekvencijske terapije nije bilo dopušteno uzimanje probiotika. Nakon prestanka uzimanja probiotika i inhibitora protonske pumpe, 36. dan 57.7% ispitanika iz grupe ProGastria i 62.1% iz grupe placebo imali su negativne testove antigena u stolici što je pokazalo da isključiva primjena probiotika uz inhibitor protonske pumpe nema eradikacijski učinak. U skupini od 20 ispitanika koji su nastavili sa sekvencijskom terapijom testiranje provedeno 90-ti dan pokazalo je da je veći postotak potpune eradikacije nakon terapije u skupini koja je prethodno uzimala probiotik (71.4%) u odnosu na kontrolnu placebo skupinu (33.3%), međutim rezultati nisu dosegli statističku značajnost. Svi ispitanici su ponovno podvrgnuti testiranju na 90-ti dan te je primijećen manji postotak ponovne pojavnosti infekcije u skupini koja je uzimala probiotik, ponovo bez statističkog značaja. Promatranje rezultata intenziteta simptoma gastrointestinalnih tegoba pokazalo je trend smanjenja u korist skupine koja je uzimala probiotik no bez statističke značajnosti.

Učinkovitost probiotičkog preparata kao adjuvansa standardnoj trojnoj terapiji ispitivana je u multicentričnoj, prospektivnoj, randomiziranoj, dvostruko slijepoj, placebo kontroliranoj studiji (36). Studija je uključivala 804 zdrava ispitanika pozitivnih na *H. pylori* te se također uzelo u obzir vrsta i intenzitet gastrointestinalnih tegoba. Ispitanici su tijekom 14 dana uzimali probiotički preparat Normia® (*L. rhamnosus GG* i *Bifidobacterium*, BB-12®) 2 puta na dan uz standardnu trojnu terapiju. Tijekom studije učinjene su 2 kontrole. Prva, nakon 15 dana u kojoj se promatralo intenzitet i vrstu gastrointestinalnih simptoma i druga nakon 42 dana kada je testirana prisutnost *H. pylori*. Rezultati su pokazali da je intenzitet promatranih simptoma gastrointestinalnih tegoba u skupini s probiotikom

značajno manji u odnosu na placebo skupinu. Također je dokazano da skupina s probiotikom ima veći stupanj izlječenja odnosi na placebo (Tablica 2.).

Tablica 2. Usporedba grupa prema broju izliječenih ispitanika 6 tjedana nakon početka studije (36).

	Probiotik	Placebo	<i>P</i> *
Udio izliječenih ispitanika, N (%)	291/333; 87.38%	230/317; 72.55%	<0.001
OR pozitivnog ishoda (95% CI)	2.62 (1.71-4.02)		
ARR u probiotičkoj skupini (95% CI)	14.8% (8.5%-20.6%)		
RRR u probiotičkoj skupini (95% CI)	54.1% (36.8%-69.0%)		
NNT (95% CI)	7 (5-12)		

OR = omjer izgleda, ARR = smanjenje apsolutnog rizika, RRR = smanjenje relativnog rizika, NNT = broj osoba koji se treba liječiti, CI=interval pouzdanosti
*hi-kvadrat test

Dvostruko slijepo, placebo kontrolirano randomizirano kliničko ispitivanje na 70 zdravih ispitanika pozitivnih na *H. pylori* sa simptomima dispepsije provedeno je u svrhu dokazivanja učinkovitosti *L. reuteri* u povećanju eradikacijskog uspjeha standardne trojne terapije te smanjenju nuspojava (37). Prisustvo *H. pylori* određivano je testom antigena u stolici, patohistološkim pregledom te brzim ureaznim testovima nakon endoskopskog pregleda. Promatrani su i vrsta i intenzitet simptoma gastrointestinalnih tegoba. Pacijenti u skupini probiotika uzimali su 2 tablete za žvakanje kombiniranog preparata *L. reuteri* (*L. reuteri* DSM 17938 i *L. reuteri* ATCC PTA 6475) doze 2×10^8 tijekom 4 tjedna u kombinaciji sa standardnom trojnom terapijom tijekom prva dva tjedna dok je placebo skupina po istom režimu uzimala placebo u kombinaciji sa standardnom trojnom terapijom. Nakon 8 tjedana učinjeni su identični testovi identifikacije kao i na početku. Endoskopskim pregledom je dokazano da je kod svih ispitanika prisutan gastritis i na početku i na kraju ispitivanja. Učinak eradikacije bio je veći kod primjene probiotika (74.3%) u odnosu na placebo (65.7%), ali bez statističkog značaja. Smanjenje intenziteta simptoma gastrointestinalnih tegoba zabilježeno je u obje skupine, međutim u skupini na probiotiku ono je jače. U skupini na probiotiku bilo je manje prijavljenih nuspojava, pogotovo proljeva i poremećaja okusa ($p=0.002$). Patohistološkim nalazima potvrđeno je značajnije smanjenje intenziteta gastritisa u skupini na probiotiku, broj upalnih stanica

(limfocita i plazma stanica) manji je u skupini na probiotiku ($p < 0.001$). Također, u skupini na probiotiku manja je aktivnost infekcije mjerena prisutnošću neutrofila ($p = 0.034$).

Usporedba učinkovitosti različitih terapijskih pristupa uz dodatak probiotika *Bifidobacterium infantis* 2036 provedena je u prospektivnom, randomiziranom otvorenom kliničkom ispitivanju (38). Ispitivanje je uključivalo 377 pacijenata, podijeljenih u 4 skupine, s potvrđenom *H. pylori* infekcijom te dokazanom dispepsijom, gastritisom ili ulkusom. Prisustvo *H. pylori* dokazano je brzim ureaznim testom nakon endoskopije, testom antigena u stolici te 14C urea izdisajnim testom. Prva grupa (A) od 106 pacijenata bila je podvrgnuta standardnoj trojnoj terapiji, druga (B) skupina od 100 nasumično odabranih pacijenata uzimala je *B. infantis* 2036 (20×10^8) dva puta na dan kao adjuvantno sredstvo trojnoj terapiji. 95 pacijenata u trećoj skupini (C) su započeli sa samostalnom primjenom *B. infantis* 2036 (20×10^8) dva puta dnevno tijekom 2 tjedna nakon čega je 10 dana kombiniran *B. infantis* 2036 (20×10^8) i trojna terapija, a 76 pacijenata iz četvrte skupine (D) uzimalo je sekvencijsku terapiju u kombinaciji s *B. infantis* 2036 (20×10^8) dva puta dnevno, kroz 10 dana. Rezultati (Tablica 3) su pokazali da kombinacija trojne terapije s *B. infantis* ima značajno veći učinak, 83%, u odnosu na samostalnu trojnu terapiju 68.9% ($P < 0.001$). Uvođenje *B. infantis* samostalno 2 tjedna prije trojne terapije te nastavak uzimanja uz trojnu terapiju se također pokazalo učinkovitije (90.5%, $P < 0.001$) u odnosu na samostalnu trojnu terapiju. Kombinacija sekvencijske terapije s *B. infantis*, pokazala je rezultate slične prethodnoj skupini, razlike među skupinama nisu bile značajne. Također je dokazano da je samostalna standardna trojna terapija učinkovitija kod pacijenata koji prije nisu bili podvrgnuti terapiji, dok takav trend nije bio kod kombinacije s *B. infantis*. Pretpostavlja se da *B. infantis* povećava osjetljivost sojeva *H. pylori* na klaritromicin. Ispitivanje je pokazalo i poboljšanje kliničkih simptoma uz primjenu *B. infantis* neovisno o tome je li eradikacija bila uspješna ili nije. Za vrijeme trajanja terapije u skupinama s *B. infantis* zabilježeno je poboljšanje u radu crijeva.

Tablica 3. Ishod terapije kod svih pacijenata (38).

Grupa pacijenata	A	B	C	D
Stopa eradikacije (%)	68.9	83.0	90.5	90.8
Stopa eradikacije, prvo korištenje klaritromicina (%)	73.0	82.8	95.2	90.0
Stopa eradikacije, već korišten klaritromicin (%)	47.1	83.3	86.6	91.7
Poboljšanje kliničkih simptoma (%)	28.8	54.0	52.5	49.8
Pacijenti s mekanom stolicom prije početka terapije (n)	5	5	12	9
Pacijenti s mekanom stolicom nakon početka terapije (n)	22	6	6	2
Pacijenti s dijarejom prije početka terapije (n)	0	0	3	2
Pacijenti s dijarejom nakon početka terapije (n)	15	3	2	1
n = broj pacijenata				

Sustavnim pregledom meta-analiza (39) procijenjeni su rezultati ispitivanja randomiziranih kontroliranih pokusa (RCT) kojim su istraženi učinci suplementacije probiotika na stopu eradikacije i nuspojava vezanih uz terapiju. Proučeno je ukupno 33 RCT sa ukupnim brojem od 4559 pacijenata (tekstovi objavljeni od 2000. – 2014. godine). Od ukupnog broja proučenih radova 20 ih je iskorišteno za analizu nuspojava, a uključivali su 2487 ispitanika. Analiza studija je pokazala da suplementacija probiotikom povećava učinkovitost eradikacijske terapije u usporedbi s placebom ili bez suplementacije. Također se pokazalo da probiotici povećavaju stopu uspješnosti eradikacijske terapije ukoliko je ona primarno loša. Kod eradikacijske stope < 60% omjer rizika eradikacije RR = 1.28, 1.12 – 1.45; ako je stopa eradikacije 60% – 69% RR = 1.18, 1.10 – 1.27, dok se kod stope eradikacije > 80% suplementacija probiotika pokazala manje korisnom. Pokazana je statistički značajna učinkovitost suplementacije *L. acidophilus*, *L. casei* DN-114001, *L. gasseri*, te *Bifidobacterium infantis* 2036. Kod promatranja ukupnog smanjenja nuspojava otvorene studije su pokazale značajan učinak probiotika dok dvostruko slijepe nisu. Kod promatranja pojedinih vrsta probiotika jedino se uporaba *Saccharomyces boulardii* pokazala statistički značajnom u smanjenju nuspojava terapije.

3.2.3. UČINAK HRANE NA *H. PYLORI* INFEKCIJU I SMANJIVANJE RIZIKA NASTANKA BOLESTI UZROKOVANIH INFEKCIJOM

Shandong intervencijsko istraživanje (SIT) (40) u trajanju od 15 godina provedeno je s ciljem dokazivanja mogućnosti različitih intervencija liječenja u smanjenju prevalencije nastanka prekanceroznih želučanih promjena te smanjenju smrtnih ishoda. Ispitivanje je obuhvaćalo 3365 dobrovoljaca (35 – 64 godine) koji prethodno nisu bili na eradikacijskoj terapiji i bez ozbiljnih oboljenja poput dijagnosticiranog karcinoma. Provedena je stratifikacija na dvije populacije, *H. pylori* seropozitivnu i *H. pylori* seronegativnu. U seropozitivnoj skupini je nasumično dodijeljena terapija ili placebo uz češnjak i vitaminske preparate dok su u seronegativnoj skupini dani češnjak i vitaminski preparat te placebo koji zamjenjuje antibiotik. Terapija je uključivala primjenu amoksicilina (1 g) i omeprazola (20 mg) tijekom 2 tjedna, a ukoliko eradikacija nije bila uspješna ispitanici (n = 382) su ponovili terapiju još 2 tjedna. Uz terapiju uključena je suplementacija 250 mg vitamina C, 100 IU vitamina E i 37.5 µg selena ili placebo 2 puta na dan. Dodatak prehrani sa češnjakom sadržavao je 200 mg ekstrakta zrelog češnjaka i 1 mg ulja češnjaka dobivenog parnom destilacijom, primjenjivao se 2 puta na dan po dvije kapsule. Suplementacija vitaminima i češnjakom trajala je 7.3 godina. Ispitivanje je započeto 1995., prvo razdoblje praćenja bilo je do 2003., a produljeno praćenje završilo je 2010. godine. Dobiveni rezultati pokazuju da eradikacijska terapija *H. pylori* učinkovito smanjuje rizik od nastanka karcinoma želuca dok suplementacija vitaminima i češnjakom nije pokazala statistički značajan učinak. Međutim, u promatranju smanjenja rizika od smrtnog ishoda jedino je suplementacija vitaminima pokazala statistički značajno smanjenje rizika smrtnog ishoda od karcinoma jednjaka ili želuca.

Wang i sur. (41) su analizirali podatke SIT-a, ali s drugog aspekta. Pokazali su da suplementacija češnjakom i vitaminskim preparatom ima učinka na koncentraciju folata i glutaciona u serumu te da ne zadiru u koncentraciju vitamina B 12 i homocisteina. U ovo ispitivanje uključen je 381 ispitanik iz SIT. Rezultati analize podataka pokazuju da suplementacija češnjakom u trajanju od 7.3 godine povećava koncentraciju folata 10.2% (95% CI: 2.9 – 18.1%) (P < 0.006). Terapija lijekovima nije imala

utjecaj na promatrane parametre dok je suplementacija vitaminima u trajanju 7.3. godine povećala količinu serumskog glutaciona 13.4% ($P < 0.001$).

Pozitivan učinak suplementacije soka brusnice i *Lactobacillus johnsonii* La1 u modulaciji kolonizacije *H. pylori* ispitan je u randomiziranoj, dvostruko slijepoj, placebo kontroliranoj studiji (42) na 295 djece (6 – 16 godina). Svi ispitanici bili su pozitivni na *H. pylori* što je potvrđeno 13C UBT testom kod uključivanja u studiju. Ukupna populacija podijeljena je u 4 skupine: sok od brusnice + La1; placebo sok + La1; sok od brusnice + tinalizirane („heat – killed“) La1 i kontrola: placebo sok + tinalizirane („heat – killed“). Pripravci su uzimani ujutro kroz tri tjedna i to 80 mL La1 te 200 mL soka od brusnice ili placebo. Na završetku primjene učinjen je drugi UBT test, a mjesec dana od prestanka korištenja preparata i treći UBT test. Rezultati (Tablica 4.) pokazuju veću stopu eradikacije u skupini sa suplementacijom u odnosu na kontrolnu grupu. Nije dokazan signifikantan sinergijski učinak La1 i soka od brusnice. Rezultati trećeg UBT testa pokazuju da je 20% ispitanika zadržalo negativan nalaz dok je kod 80% ponovno prisutna infekcija.

Tablica 4. Stope eradikacije *H. pylori* u četiri eksperimentalne grupe za različite granične vrijednosti urea izdisajnog testa (42).

Uzorci	Granične vrijednosti			
	< 5‰	< 4‰	< 3‰	< 2‰
Kontrola (n= 69)	1 (1.5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
La1 (n = 67)	10 (14.9%)	9 (13.4%)	7 (10.4%)	6 (9.0%)
Sok od brusnice (n = 65)	11 (16.9%)	9 (13.8%)	8 (12.3%)	6 (9.2%)
Sok od brusnice / La1 (n = 70)	16 (22.9%)	14 (20.0%)	10 (14.3%)	10 (14.3%)
<i>P</i> (hi-kvadrat)	0.0028	0.0027	0.018	0.02

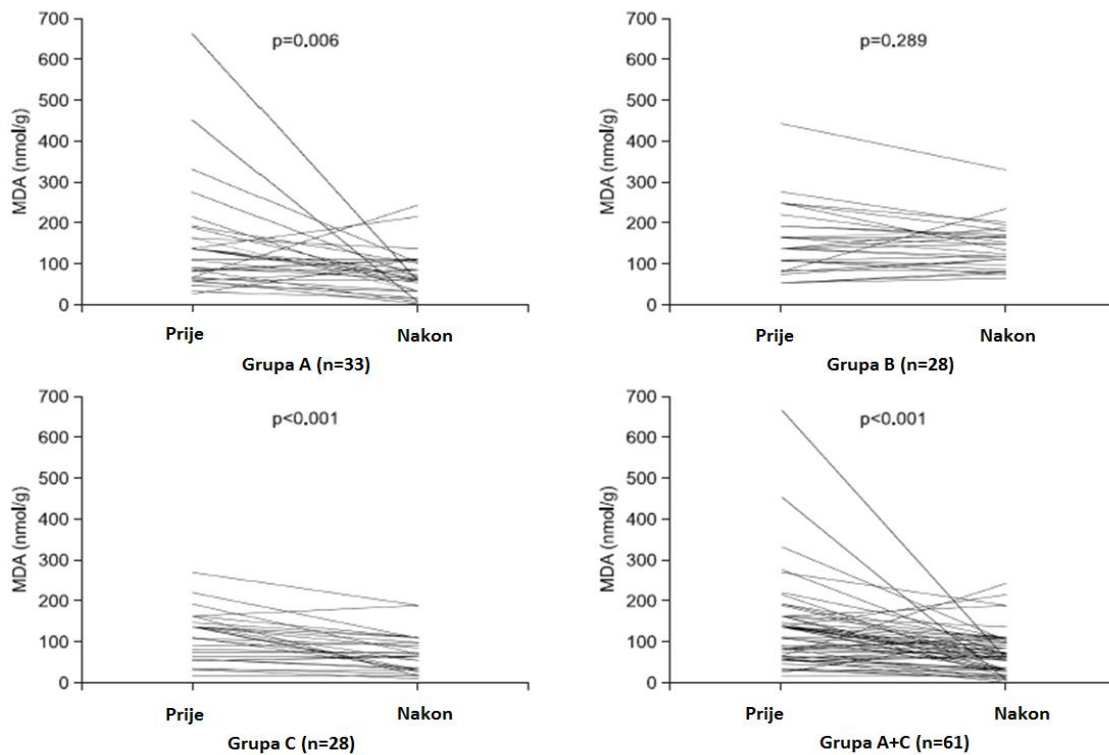
Učinak suplementacije brusnicom na poboljšanje uspjeha standardne trojne terapije dokazan je na 177 zdravih dobrovoljaca pozitivnih na *H. pylori*. Ispitanici su tijekom tjedan dana uzimali trojnu terapiju + sok od brusnice ili placebo, te nakon toga 2 tjedna nastavili uzimati 250 mL soka od brusnice ili placebo 2 puta na dan. Paralelno s ovim ispitivanjem, 712 ispitanika uzimalo je isključivo trojnu terapiju tjedan dana. 5 – 7 tjedana nakon završetka primjene preparata rađen je UBT test.

Rezultati su pokazali da je ukupna stopa eradikacije 82.5%, razlike u učinkovitosti između standardne terapije i terapije s brusnicom nisu bile signifikantne. Zabilježena je razlika u učinkovitosti eradikacije u ženskoj populaciji između skupine na trojnoj terapiji + sok od brusnice (95.2%) i samostalnoj trojnoj terapiji (80%) ($p = 0.03$, 95% CI: 3 – 23%). Usporedba rezultata UBT testa prije i nakon provedene terapije pokazuje da kombinacija terapije i soka od brusnice signifikantno smanjuje 13C UBT vrijednost u ženskoj populaciji, dok u muškoj populaciji pokazuje taj trend, ali bez statističkog značaja. Placebo skupine nisu pokazale učinak na smanjenje vrijednosti 13C UBT testa. (43)

Učinak izdanaka brokule na serumsku koncentraciju pepsinogena (PG) i na kolonizaciju *H. pylori* kod ljudi ispitivali su Yanaka i sur. (31). U dvostruko slijepom randomiziranom pokusu 50 ispitanika je konzumiralo 70 g izdanaka brokule ili placebo (alfa-alfa) na dan tijekom 8 tjedana. Rezultati su pokazali da je prehrana izdanaka brokule značajno smanjila koncentraciju PG I i PG II kao i omjer PG I i PGII za vrijeme trajanja konzumacije, dok su vrijednosti 2 mjeseca nakon prestanka uzimanja izdanaka bile identične kao na početku ispitivanja. Rezultati UBT testa i testa antigena u stolici pokazali su signifikantan učinak ($P < 0.05$) izdanaka brokule na *H. pylori* infekciju za vrijeme trajanja konzumacije, dok u placebo skupini nije bilo promjene. 2 mjeseca nakon prestanka konzumacije brokule učinak više nije bio vidljiv.

Chang i sur. (44) ispitivali su učinak ekstrakta izdanaka brokule sa sulforafanom na infekciju *H. pylori* te njihovo antioksidativno djelovanje na sluznicu želuca. Pri uključivanju u studiju korišteni su UBT test i endoskopski pregled te brzi ureaza test. Također je promatrana koncentracija amonijaka u želučanom soku kao dodatni indikator bakterijskog opterećenja, koncentracija glutaciona kao indikator antioksidativnog djelovanja te koncentracija malonaldehida kao indikator oksidativnog oštećenja želučane sluznice. 89 ispitanika s blagim gastritisom nasumično je raspoređeno u 3 grupe: (A) 33 *H. pylori* pozitivna ispitanika uzimali su ekstrakt izdanaka brokule 2 puta na dan kroz 4 tjedna (500 mg standardiziranog ekstrakta brokule s 2 000 μ g sulforafana), 28 *H. pylori* pozitivna ispitanika na placebo (B) i 28 *H. pylori* negativna ispitanika na ekstraktu brokule (C). Uzimanje ekstrakta izdanaka brokule nije pokazalo značajan učinak na *H. pylori* kao ni na koncentraciju amonijaka u

želučanom soku. Statistički značajno smanjenje koncentracije malonaldehida (Slika 11.) primijećeno je u svim skupinama koje su uzimale ekstrakt izdanaka brokule neovisno o prisustvu *H. pylori* infekcije, dok povećanje koncentracije glutaciona nije doseglo statistički značaj, ali pokazuje umjereno pozitivan trend.



Slika 10. Usporedba koncentracije malonaldehida u svim grupama prije i nakon terapije (44).

Presječna studija provedena u Japanu na 636 dobrovoljaca od 30 – 64 godine ispitala je učinak konzumacije zelenog čaja na rizik nastanka kroničnog atrofičnog gastritisa. Prisutnost *H. pylori* infekcije dokazana je serološkim testom te je također promatrana serumska koncentracija pepsinogena. Rezultati su pokazali da je omjer izgleda za nastanak kroničnog atrofičnog gastritisa smanjen u populaciji s pozitivnim *H. pylori* kod konzumacije većih količina zelenog čaja, ≥ 10 šalica na dan (OR = 0.57, 95% CI: 0.35 – 0.93), dok je kod *H. pylori* negativnih ispitanika pokazivao trend smanjenja, no bez statističkog značaja (45).

Koristeći podatke talijanske studije na 230 pacijenata s histološki potvrđenim karcinomom želuca i 547 kontrolnih pacijenata s akutnim ne-neoplastičnim bolestima Praud i sur. (46) ispitivali su ukupni antioksidativni učinak hrane na nastanak karcinoma želuca koristeći tri različite metode neenzimatskog antioksidativnog kapaciteta (NEAC). Korištene su: TEAC (Trolox ekvivalentna antioksidativna aktivnost), FRAP (antioksidativna moć redukcije željeza) te TRAP (*eng.* Total Radical – trapping antioxidant parameter). Koristeći talijanske tablice hrane određeni su antioksidativni potencijali određene hrane, a prehrambene navike pacijenata dobivene su popunjavanjem upitnika o frekvenciji korištenja određene vrste hrane. Najviši doprinos NEAC u skupini voća imalo je citrusno voće te jabuke i kruške. Rezultati su pokazali signifikantan obrnuto proporcionalni odnos između TEAC, TRAP i karcinoma želuca. Omjer izgleda najvišeg u odnosu na najniži tercil za TEAC, OR = 0.54 (95% CI: 0.33 – 0.88) ($p = 0.01$) te za TRAP, OR = 0.57 (95% CI: 0.36 – 0.9) ($p = 0.02$). Parametar FRAP nije pokazao statistički značajan odnos prema karcinomu želuca. Kod stratifikacije rezultata po odabranim kovarijatama međusobni odnos između dva NEAC parametra i karcinoma želuca je signifikantniji u starijoj populaciji, populaciji sa slabijim stupnjem školovanja te aktivnim pušačima.

Učinak unosa voća i povrća na rizik nastanka karcinoma želuca i adenokarcinoma jednjaka promatran je u velikom kohortnom ispitivanju (47) na 521 457 zdravih ispitanika od 35 – 70 godina starosti iz 10 europskih država. Prehrambene navike prikupljene su upitnicima pri uključivanju u ispitivanje. Na pregledu nakon 6.5 godina dijagnosticirano je 330 karcinoma želuca i 65 adenokarcinoma jednjaka. U sklopu ove studije provedeno je i paralelno istraživanje (nested case-control study) na 241 karcinoma želuca i 47 karcinoma jednjaka te na 1141 kontroli koje je ispitivalo je li povezanost između unosa voća i povrća i rizika od nastanka karcinoma modificirana infekcijom *H. pylori*. Rezultati su pokazali da nema povezanosti unosa povrća i rizika nastanka karcinoma želuca, kao ni adenokarcinoma jednjaka. Kod promatranja pojedinačnih vrsta povrća, granično signifikantna negativna povezanost s rizikom nastanka intestinalnog karcinoma želuca bila je kod konzumacije luka i češnjaka ($p = 0.06$). Omjer ugroženosti iznosi 0.7 (95% CI: 0.38 – 1.29) kod povećanja unosa za 10

g/dan. Kod ukupne konzumacije voća također nije pokazana povezanost sa rizikom nastanka karcinoma želuca. Negativna, ali statistički nesignifikantna povezanost primijećena je kod unosa citrusnog voća i karcinoma kardije želuca. Omjer ugroženosti u odnosu najvišeg i najnižeg kvartila unosa bio je 0.62; (95% CI: 0.32 – 1.19) (p = 0.08). Omjer se nije mijenjao s povećanjem unosa. Rezultati paralelnog istraživanja (Tablica 5) pokazali su statistički značajan odnos kod svježeg i citrusnog voća, ali njihov pojedinačni učinak nije bio signifikantan kao ni povezanost s *H. pylori*. Rezultati nisu pokazali da prisustvo *H. pylori* infekcije modificira međusobnu povezanost između unosa voća i povrća te rizika nastanka karcinoma.

Tablica 5. Kalibrirani ukupni unos povrća, unos voća i citrusa i rizik od nastanka karcinoma želuca kod *H. pylori* negativnih i *H. pylori* pozitivnih ispitanika. (prilagođena tablica) (47)

Hrana	Br. HP - / HP+	Želudac (40/201)			Kardijalni (22/47)			Ne-kardijalni (12/113)			Intestinalni (16/77)			Difuzni (9/82)		
	HP+ status	OR	CI 95%	p	OR	CI 95%	p	OR	CI 95%	p	OR	CI 95%	p	OR	CI 95%	p
Povrće total	Negativni	1.53	0.49- 4.78	0.41	2.42	0.54- 10.8	0.73	0.7	0.03- 16.7	0.73	1.17	0.19- 7.1	0.81	0.43	<0.001- 392.52	0.81
	Pozitivni	1.11	0.71- 1.74		1.42	0.58- 3.45		1.25	0.71- 2.20		0.88	0.44- 1.8		1.22	0.64- 2.34	
Svježe voće total	Negativni	0.72	0.39- 1.33	0.013	0.61	0.25- 1.47	0.43	0.64	0.14- 2.89	0.43	0.81	0.33- 1.95	0.19	0.00	<0.001- 3.09	0.83
	Pozitivni	0.98	0.81- 1.20		0.76	0.48- 1.22		1.10	0.87- 1.39		0.9	0.65- 1.25		0.9	0.64- 1.24	
Citrusi	Negativni	0.49	0.18- 1.33	0.012	0.61	0.17- 2.15	0.71	0.47	0.05- 4.39	0.10	0.54	0.11- 2.54	0.20	0.001	<0.001- 20.9	0.37
	Pozitivni	0.89	0.64-		0.46	0.20-		1.20	0.82-		0.95	0.59-		0.64	0.36-	

Povezanost mediteranske prehrane i ukupnog rizika nastanka karcinoma analizirana je iz podataka Europskog prospektivnog istraživanja o karcinomu i prehrani (EPIC). Istraživanje je obuhvaćalo 142 605 muškaraca i 335 873 žena koji su bili praćeni 8.7 godina. Adherencija mediteranskoj prehrani ocijenjena je bodovanjem prema skali s 9 jedinica koje uključuju unos voća i orašastih plodova, povrća, leguminoza, žitarica, masti, ribe, mliječnih proizvoda, mesnih proizvoda i alkohola. Skala za ocjenjivanje adherencije bila je raspona 0 – 9, a veći rezultat značio je bolju adherenciju mediteranskoj prehrani. U ispitanom periodu došlo je do nastanka karcinoma kod 9669 muškaraca i 21062 žena. Bolja adherencija mediteranskoj prehrani primijećena je kod ispitanika s

višim stupnjem edukacije, kod ispitanika koji su bili fizički aktivni te u populaciji bivših pušača i onih koji nikada nisu pušili. Dokazano je da adherencija mediteranskoj prehrani statistički značajno doprinosi smanjenju rizika od nastanka raka. Omjer ugroženosti (HR) kod povećanja 2 boda adherencije mediteranskoj prehrani iznosio je 0.96 (95% CI: 0.95 – 0.98); kod muškaraca HR = 0.97 (95% CI: 0.95 – 0.99) te kod žena HR = 0.96 (95% CI: 0.95 – 0.98). Nije bilo razlike između sjevernih i južnih država Europe. Kod promatranja količine unosa hrane primijećeno je da povećanje adherencije mediteranskoj prehrani smanjuje rizik od nastanka karcinoma (Tablica 6.). Kod procjenjivanja učinka pojedinačnih skupina (Tablica 7.) hrane koji su uzeti za formiranje skale bodovanja adherencije mediteranskoj prehrani zabilježen je protektivni učinak voća i orašastih plodova, povrća, žitarica i kod visokih omjera nezasićenih i zasićenih masnih kiselina. Unos mesa je pokazao povećanje rizika od nastanka karcinoma. Pregledom ukupnih rezultata Couto i sur. (48) zaključili su da bi ukupno 4.7% karcinoma kod muškaraca i 2.4% kod žena bilo izbjegnuto ukoliko bi adherencija mediteranskom tipu prehrane iznosila više od 6 bodova.

Tablica 6. Omjer ugroženosti od svih oblika karcinoma u kategorijama bodovanja mediteranske prehrane (48).

Bodovi	Ukupni broj ispitanika	Broj slučajeva	HR (95% CI)
Oba spola			
0 – 3	154052	10349	1.00
4	105936	6849	0.96 (0.93 – 0.99)
5	99672	6225	0.92 (0.89 – 0.95)
6 - 9	118818	7308	0.93 (0.90 – 0.96)
			<i>P</i> =0.00001
Muškarci			
0 – 3	43161	3044	1.00
4	30770	2121	0.99 (0.93 – 1.04)
5	29766	2049	0.97 (0.92 – 1.03)
6 - 9	38908	2455	0.93 (0.88 – 0.99)
			<i>P</i> =0.02
Žene			
0 – 3	110891	7305	1.00
4	75166	4728	0.95 (0.91- 0.98)
5	69906	4176	0.90 (0.87 – 0.94)
6 - 9	79901	4853	0.93 (0.89 – 0.96)
			<i>P</i> =0.0001

HR = omjer ugroženosti; CI = interval pouzdanosti

Tablica 7. Dnevni unos skupina hrane uzete u obzir za formiranje bodovne skale mediteranske prehrane i omjer ugroženosti za nastanak karcinoma sveukupno (prilagođena tablica) (48).

	Aritmetička sredina ± s.d.	Povećanje	HR (95% CI)
Ukupni rezultat	4.4 ± 1.7	2	0.96 (0.95 – 0.98)
Voće i orašasti plodovi (g na dan)	247.3 ± 197.2	200	0.98 (0.96 – 0.99)
Povrće (g na dan)	211.2 ± 146.1	145	0.97 (0.95 – 0.98)
Leguminoze (g na dan)	14.6 ± 23.4	25	1.00 (0.99 – 1.02)
Žitarice (g na dan)	219.0 ± 110.8	110	0.97 (0.95 – 0.98)
Mliječni proizvodi (g na dan)	326.7 ± 235.2	235	1.01 (0.99 – 1.02)
Riba (g na dan)	37.2 ± 35.8	35	1.01 (0.99 – 1.02)
Meso (g na dan)	98.7 ± 6.3	60	1.02 (1.01 – 1.04)
Jednostruko nezasićene masnoće (g na dan)	30.9 ± 13.8	15	1.01 (0.98 – 1.04)
Višestruko nezasićene masnoće (g na dan)	14.2 ± 6.5	5	0.98 (0.97 – 1.00)
Zasićene masnoće (g na dan)	31.5 ± 13.0	15	1.01 (0.99 – 1.04)
Omjer nezasićenih i zasićenih masnoća (g na dan)	1.5 ± 0.5	0.5	0.98 (0.96 – 0.99)

s.d. = standardna devijacija; HR = omjer ugroženosti; CI = interval pouzdanosti. Povećanje je uglavnom slično standardnoj devijaciji.

Buckland i sur. (17) su istraživali povezanost između pridržavanja mediteranskoj prehrani i pojavnosti karcinoma želuca unutar Europskog prospektivnog istraživanja o karcinomu i prehrani. U studiju je bilo uključeno 485 044 ispitanika iz 10 europskih država. Kod uključivanja u ispitivanje podaci o prehrambenim navikama prikupljeni su pomoću upitnika. Kako bi procijenili stupanj pridržavanja relativnoj mediteranskoj prehrani (rMED) korištena je skala od 18 ocjena koja je uključivala 9 osnovnih komponenti mediteranske prehrane. Ukupna relativna mediteranska prehrana računata je za svakog ispitanika kao ukupna vrijednost dobivena od svake komponente. Ocjene rMED podijeljene su u tri skupine: 0 nema adherencije, niska (0 – 6), srednja (7 – 10) te visoka adherencija (11 – 18). Nakon razdoblja praćenja od 8.9 godina zabilježeno je 449 ispitanika s potvrđenim karcinomom želuca koji su ušli u analizu podataka. Bolje pridržavanje mediteranskoj prehrani pokazalo se u populaciji žena, mlađoj populaciji slabijeg stupnja obrazovanja, većeg indeksa tjelesne mase (ITM) i osoba koje nikada nisu pušile. Unos voća u najvišem tercilu (Tablica 8) u odnosu na najniži tercil pokazao je signifikantni učinak smanjenja rizika nastanka karcinoma želuca (HR = 0.67; 95% CI: 0.51 – 0.87), dok je unos mesa pozitivno povezan s nastankom karcinoma želuca. U drugim skupinama hrane nije zabilježen statistički značajan učinak. U odnosu na nisko pridržavanje mediteranskoj prehrani visoko je povezano je sa značajnim smanjenjem rizika nastanka karcinoma

želuca, omjer ugroženosti HR = 0.67 (95% CI: 0.47 – 0.94) ($P = 0.02$). Povećanje stupnja pridržavanja mediteranskoj prehrani za 1 ocjenu povećalo je preventivni učinak 5%.

Tablica 8. Multivarijabilni omjeri ugroženosti (HR) od karcinoma želuca prema tercilima unosa pojedinih komponenti bodovanja relativne mediteranske dijeta (rMED) unutar europskog prospektivnog istraživanja o karcinomu i prehrani, prilagođeni podaci (17).

Komponenta rMed (g * 1000 Kcal ⁻¹ * d ⁻¹) ²	Ukupni broj ispitanika (n = 485028)		
	Broj karcinoma (n = 449)	HR (95% CI)	<i>P</i>
Povrće			
T1	200	1 (referentno)	
T2	135	0.84 (0.67 – 1.06)	
T3	114	0.86 (0.64 – 1.15)	0.232
Leguminoze			
T1	155	1 (referentno)	
T2	165	0.99 (0.75 – 1.29)	
T3	129	0.89 (0.64 – 1.23)	0.478
Voće			
T1	200	1 (referentno)	
T2	122	0.69 (0.54 – 0.87)	
T3	127	0.67 (0.51 – 0.87)	0.002
Žitarice			
T1	179	1 (referentno)	
T2	149	0.99 (0.79 – 1.26)	
T3	121	0.80 (0.61 – 1.04)	0.126
Riba			
T1	151	1 (referentno)	
T2	137	0.87 (0.67 – 1.13)	
T3	161	1.18 (0.89 – 1.57)	0.219
Maslinovo ulje			
Ne konzumiraju	220	1 (referentno)	
< medijan	78	1.05 (0.74 – 1.46)	
> medijan	151	1.15 (0.78 – 1.69)	0.479
Mliječni proizvodi			
T1	145	1 (referentno)	
T2	142	1.01 (0.80 – 1.27)	
T3	162	0.97 (0.75 – 1.25)	0.828
Meso			
T1	107	1 (referentno)	
T2	156	1.19 (0.92 – 1.54)	
T3	186	1.33 (1.03 – 1.72)	0.033

4. RASPRAVA

Rezultati studija (21 i 33) potvrđuju da originalni soj *L. reuteri* DSM 17648 učinkovito smanjuje ukupno bakterijsko opterećenje kod *H. pylori* infekcije.

Studija provedena na ljudima (33) daje izuzetno dobre temelje pretpostavci da upotreba *L. reuteri* DSM 17648 može imati preventivni učinak na nastanak sekundarnih bolesti uzrokovanih *H. pylori* infekcijom. Autori ističu izrazito važan podatak da se u ovom slučaju zaštitni učinak nastavlja i nakon prestanka upotrebe probiotika (Slika 9.). Ovaj originalni soj ima jedinstveni način djelovanja na *H. pylori*. Dokazano stvara visoko specifične koagregate s *H. pylori* (21), koji se izlučuju iz organizma, što rezultira smanjenjem ukupnog bakterijskog opterećenja. Upravo zbog toga *L. reuteri* DSM 17648 može biti dodatak prehrani s preventivnim učinkom u slučajevima dugotrajne asimptomatske infekcije te adjuvans standardnoj terapiji eradikacije. Obzirom da je *L. reuteri* DSM 17648 inaktivirani oblik probiotika, pokazuje veću stabilnost u različitim oblicima suplemenata što definitivno omogućava širu i jeftiniju primjenu. Autori navode da je za jače i sigurnije pozicioniranje ispitivanog soja *L. reuteri* potrebno učiniti još ispitivanja s većim brojem ispitanika kako bi se u potpunosti potvrdila njegova samostalna pozicija ili doprinos standardnoj terapiji eradikacije.

Francavilla i sur. (34) su također ispitivali učinkovitost samostalne primjene probiotika kod *H. pylori* infekcije. Dobiveni rezultati s *L. reuteri* ATCC 55730 pokazuju učinkovito smanjenje vrijednosti urea izdisajnog testa, kao i vrijednosti testa antigena u stolici, što ukazuje na smanjenje ukupnog bakterijskog opterećenja. Primjena ispitivanog soja *L. reuteri* smanjila je i simptome gastrointestinalnih smetnji, ali nije doprinijela učinkovitosti sekvencijske terapije provedene nakon 28 dana primjene *L. reuteri* ATCC 55730. Autori navode da smanjenje vrijednosti UBT testa, dakle smanjenje aktivnosti ureaza, znači smanjenje bakterijskog opterećenja što posljedično dovodi do smanjenja aktivnosti gastritisa i smanjenja aktivnosti mijeloperoksidaze koja je kvantitativni marker za gastrointestinalnu upalu. Na temelju dobivenih rezultata pretpostavljaju da *L. reuteri* ima pozitivan učinak na smanjenje ukupnog broja bakterija *H. pylori* u želucu i posljedično smanjuje intenzitet upale želuca te potencijalno smanjuje rizik od nastanka peptičke ulkusne bolesti i povezanih

komplikacija. Obzirom na dokazani učinak, postoji nekoliko mogućih mehanizama učinka na *H. pylori* infekciju; direktni bakteriostatski učinak, produkcija inhibitornih sastojaka (reuterin), kompeticija za nutrijente, nespecifična imunostimulacija produkcije IgA te sposobnost adhezije na epitelne stanice želuca (18 – 20). Obzirom da se promatrani simptomi gastrointestinalnih smetnji preklapaju u slučaju dispepsije i iritabilnog kolona, autori pretpostavljaju da je poboljšanje intenziteta simptoma vezano uz iritabilni kolon, a ne uz dispepsiju. Za potvrdu nalaza potrebno je učiniti studije s većim brojem ispitanika. Učinak provedene sekvencijske terapije bio je vrlo visok te pretpostavljaju da je upravo zbog toga učinak primjene *L. reuteri* bez statističkog značaja. Kako bi dobili točne podatke sa boljim statističkim značajem, potrebno je povećati broj ispitanika uključenih u studiju.

Rezultati studije (35) pokazuju da primjena *L. reuteri* u kombinaciji s IPP ne dovodi do eradikacije *H. pylori*, ali pokazuju trend u korist uzimanja probiotika u povećanju uspješnosti sekvencijske terapije kao i smanjenju intenziteta gastrointestinalnih simptoma. Autori navode da je mogući nedostatak ove studije i prerano testiranje testom antigena u stolici nakon primjene IPP za koji smjernice Maastrichta (2) nalažu da se učini minimalno 2 tjedna nakon uzimanja IPP dok je u studiji test odrađen nakon 8 dana. Mogućnost poboljšanja vide u samostalnoj primjeni *L. reuteri* bez kombinacije s IPP. Ukupna stopa učinkovitosti sekvencijske terapije niža je od očekivane, pretpostavlja se zbog loše suradljivosti pacijenata i moguće antibiotske rezistencije. Uzimanje *L. reuteri* 28 dana prije početka same sekvencijske terapije pokazuje trend povećanja učinkovitosti, ali bez statističkog značaja. Unatoč činjenici da rezultati nisu dosegli statistički značajnu razinu postoji vjerojatnost da bi, ukoliko se u studiju uključi veći broj pacijenata te se produlji vrijeme trajanja uzimanja probiotika, rezultati dosegli statistički značaj.

Hauser i sur. (36) su na 804 zdravih ispitanika dokazali bolji učinak trojne eradikacijske terapije kao i smanjenje intenziteta simptoma gastrointestinalnih tegoba ukoliko se uz trojnu terapiju primjenjuje probiotički preparat Normia® (*L. rhamnosus GG* i *Bifidobacterium*, BB-12®) (Tablica 2). Obzirom da učinkovitost standardne trojne terapije ne doseže željenu učinkovitost zbog povećanja antibiotske rezistencije i loše suradljivosti pacijenata, dodavanje probiotika kao adjuvantne terapije

može biti činitelj povećanja učinkovitosti standardne trojne terapije. Autori vide mogućnost suplementacije probioticima kao rješenje kojim bi se izbjeglo korištenje dodatnih antibiotika te značajno povećala suradljivost pacijenata obzirom da njihovi rezultati pokazuju značajan učinak na smanjenje intenziteta gastrointestinalnih tegoba. Autori navode da njihova studija ima nedostatak, obzirom da je provedena u ordinacijama obiteljske medicine bez točno zadane trojne terapije, odabir lijekova vršili su liječnici obiteljske medicine. Ujedno smatraju da je to i određena prednost obzirom da su uvjeti sličniji svakodnevnim situacijama. Obzirom na dobivene rezultate, zaključuju da probiotici imaju poziciju kao adjuvantna terapija s ciljem poboljšanja učinkovitosti trojne terapije te smanjenja nuspojava vezanih uz istu.

Ispitivanje koje su proveli Emara i sur. (37) bilježi ukupni uspjeh trojne terapije od samo 60% uzevši u obzir cijelu ispitivanu populaciju. Autori se slažu da u skladu s dosadašnjim istraživanjima i njihovi rezultati pokazuju sve veći problem visoke rezistencije na amoksisilin u ukupnoj populaciji. Obzirom da je u skupini na *L. reuteri* uspjeh eradikacije bio 74,3%, dodavanje probiotika smatraju adekvatnim suplementom za poboljšanje učinkovitosti trojne terapije. Smanjenje učestalosti nuspojava uzimanja terapije, pogotovo dijareje, te smanjenje intenziteta gastritisa značajno će doprinijeti boljoj suradljivosti pacijenata. Kao posebnu zanimljivost autori navode novo otkriće da *L. reuteri* ima učinak na patohistološki nalaz *H. pylori* infekcije. Uz poboljšanje učinka standardne terapije, povoljan učinak na patohistološki nalaz doprinosi smanjenju rizika od nastanka atrofičnog gastritisa i ostalih malignih bolesti želuca. Iako se poboljšanje simptoma gastritisa primjećuje kod upotrebe antibiotika, njihov dokaz govori u prilog tome da je učinak jači i dugotrajniji kod suplementacije probiotika. Dakle, primjena probiotika dovodi do umjerenog povećanja učinkovitosti standardne trojne terapije, značajno smanjuje intenzitet gastrointestinalnih tegoba, smanjuje nuspojave standardne terapije te dovodi do poboljšanja patohistološkog nalaza.

Dajani i sur. (38) proveli su interesantno ispitivanje obzirom da uspoređuju različite terapijske pristupe uz dodatak probiotika *B. infantis* 2036. Značajno je da se za identifikaciju obavezno koristio noviji 14C UBT test. U ovu studiju, za razliku od prethodno promatranih, uključeni su i pacijenti koji su

već bili liječeni i pacijenti s dokazanim tegobama poput dispepsije, gastritisa i ulkusa. Rezultati su interesantni jer pokazuju kako dodavanje probiotika *B. infantis* kao adjuvantnog sredstva trojnoj i sekvencijskoj terapiji dovode do povećanja eradikacijskog učinka (Tablica 3). Doprinos dodavanja probiotika u ispitivane terapijske režime je i poboljšanje kliničke slike kod ispitanika, neovisno o tome je li provedena potpuna eradikacija ili nije. Smanjenje nuspojava nije bilo statistički značajno, ali je zabilježen trend smanjenja. Autori ističu da je otvorena mogućnost da *B. infantis* povećava osjetljivost sojeva *H. pylori* rezistentnih na klaritromicin, obzirom da je eradikacija kod pacijenata koji su već koristili klaritromicin bila veća uz dodatak probiotika, što bi značilo da primjenom ovog probiotika možemo doprinijeti smanjenju količine upotrebljavanih antibiotika te osigurati učinkovitu eradikacijsku terapiju.

Meta-analiza (39) pokazuje da suplementacija probiotika uz standardnu terapiju eradikacije može poboljšati uspjeh iste. Obzirom da je pokazano da je suplementacija značajnija ukoliko je samostalna terapija manje uspješna, postoji mogućnost da dodatak probiotika smanjuje rezistenciju *H. pylori* na korištene antibiotike. Ova meta-analiza obuhvatila je studije novijeg datuma i ukazuje na nekoliko problema pri provođenju studija. Ne postoji dovoljan broj studija s jednom vrstom probiotika kako bi se točno utvrdila korist pojedinih sojeva. Kod analize nuspojava, nedostaje više dvostruko slijepih studija kako bi se sa sigurnošću mogli dobiti objektivni rezultati. Svakako je u budućim ispitivanjima potrebno uniformirati upitnike za nuspojave, uključiti veći broj ispitanika i koristiti jedan soj probiotika. Uzimajući u obzir rezultate dobivene meta analizom, probiotici mogu biti dobra adjuvantna terapija koja neće poremetiti ishod primarne terapije, a ujedno će doprinijeti poboljšanju suradljivosti pacijenata obzirom da mogu dovesti do smanjenja nuspojava terapije.

Iz rezultata dva promatrana istraživanja (40) i (41) nije moguće determinirati samostalni učinak pojedine komponente suplementacije. SIT ispitivanje je provedeno u području s visokom prevalencijom karcinoma želuca, stoga rezultate nije moguće proširiti na globalnu razinu – postoji mogućnost da bi u populacijama s manjom prevalencijom bili dobiveni drugačiji rezultati. Također, kombinacija lijekova korištenih u terapiji eradikacije ne zadovoljava najnovije smjernice pa je moguće

da bi kod korištenja standardne trojne ili sekvencijske rezultati bili sasvim drugačiji. U ispitivanju je korišten ekstrakt zrelog češnjaka i ulje dobiveno parnom destilacijom pa autori predlažu da se u budućnosti ispita mogućnost primjene sirovog češnjaka, obzirom da u *in vitro* uvjetima pokazuje značajan antibakterijski učinak (30). Protektivni učinak češnjaka na nastanak karcinoma je dokazan zahvaljujući sposobnosti podizanja koncentracije folata u serumu. Zanimljiva je činjenica da suplementacija vitaminima i selenom ne doprinosi smanjenju rizika od nastanka karcinoma želuca, ali doprinosi smanjenju rizika od smrti kao posljedice karcinoma želuca. U budućnosti je svakako potrebno provesti daljnja ispitivanja. Obzirom da je potvrđen učinak vitaminske suplementacije u povećanju razine serumskog glutationa, čime dodatno umanjuje oksidativni stres, možemo očekivati da će radovi u budućnosti potvrditi adekvatan zaštitni učinak u nastanku karcinoma želuca.

Brusnica samostalno i u kombinaciji s *Lactobacillus johnsonii* La1 pokazuje potencijal kontroliranja *H. pylori* infekcije. Rezultati ne pokazuju značajnu razliku između kombinacije i samostalne primjene pojedinih suplemenata. Na osnovu dobivenih rezultata Gotteland i sur. (42) smatraju da negativan rezultat drugog UBT testa koji nije potvrđen na trećem testiranju ukazuje na potrebu za kontinuiranom primjenom soka od brusnice i/ili La1 kako bi se kolonizacija *H. pylori* držala pod kontrolom. Zahvaljujući neškodljivosti ispitivanih preparata, takva primjena je itekako moguća te zbilja brusnica i *Lactobacillus johnsonii* La1 mogu biti funkcionalni preparati za učinkovitu modulaciju bakterijskog opterećenja *H. pylori*. Kontinuirana konzumacija može biti prevencija komplikacija infekcije, pogotovo u dječjoj populaciji koja nema simptome infekcije.

Prilikom započinjanja studije (43) autori su očekivali da će suplementacija soka od brusnice povećati učinkovitost trojne terapije. Obzirom da se rezultati nisu pokazali značajnima odlučili su dodatno promatrati rezultate dobivene po spolu. Takvo promatranje zahtijevalo je dodatnu doradu pa su za kontrolu korišteni pacijenti koji su u istom periodu bili na trojnoj terapiji neovisno o prvotnoj ispitivanoj populaciji. Obrada rezultata pokazala je čak 95%-tnu stopu eradikacije u ženskoj populaciji sa suplementacijom brusnice uz terapiju dok, u muškoj populaciji nije bilo značajne razlike. Autori navode značajnom činjenicu da su prvi puta pokazali da je učinak trojne terapije uz suplementaciju

soka od brusnice ovisan o spolu. Značajnost dobivenih rezultata potkrjepljuju dosadašnjim saznanjima da su povišena antitijela na *H. pylori* učestalija u ženskoj populaciji te višim vrijednostima UBT testa kod žena prilikom uključivanja u studiju. Smatraju da je potrebno daljnje ispitivanje razlike *H. pylori* infekcije kod žena i muškaraca. Također navode da je kao jedan od mogućih razloga boljih rezultata kod žena njihova bolja suradljivost. Kako bi se potvrdio učinak brusnice i objasnio učinak u ženskoj populaciji, potrebno je učiniti dodatna ispitivanja na većem broju ispitanika.

Obzirom da je količina sulforafana najveća u mladoj biljci brokule, za ispitivanje učinka konzumacije na upalni proces te *H. pylori* infekciju u dva promatrana ispitivanja korišteni su izdanci brokule. Yanaka i sur. (31) dokazali su i na animalnom i na humanom modelu pozitivan učinak sulforafana na *H. pylori* infekciju. Za vrijeme konzumacije izdanaka učinkovito je smanjena koncentracija PG I i PG II što je povezano sa smanjenjem upale želučane sluznice te su smanjene vrijednosti UBT testa i testa antigena u stolici, međutim, efekt nije bio vidljiv nakon prestanka konzumacije. Uz njihove nalaze te potvrđeno djelovanje *in vitro*, autori smatraju da sulforafan ima obećavajuću poziciju kao antibakterijsko sredstvo koje može djelovati na *H. pylori* te pružati preventivni učinak na nastanak karcinoma želuca. Konzumacija 2000 µg sulforafana na dan tijekom 4 tjedna nije pokazala smanjenje vrijednosti UBT testa pa autori (44) smatraju da je moguće da bi učinak bio značajniji ukoliko bi se produljilo vrijeme trajanja studije. Konzumacija sulforafana dovela je do značajnog smanjenja koncentracije malonaldehida i trenda porasta koncentracije glutationa što ukazuje na pozitivan protektivni učinak na sluznicu želuca kod *H. pylori* infekcije. Autori također navode nekoliko nedostataka njihove studije; kao što je mali broj ispitanika, prekratko vrijeme praćenja učinka sulforafana i nije ispitivana učinkovitost sulforafana u kombinaciji sa standardnom terapijom eradikacije. Unatoč činjenici da konzumacija sulforafana nije dovela do eradikacije, rezultati pokazuju mogući protektivni učinak na sluznicu želuca obzirom da je došlo do smanjenja oštećenja sluznice želuca uzrokovane oksidativnim stresom zbog *H. pylori* infekcije. Potrebno je provesti ispitivanja na većem broju ispitanika kako bi se potvrdilo i detaljnije objasnilo djelovanje sulforafana na *H. pylori* infekciju.

Rezultati „cross-over“ studije (45) pokazali su da konzumacija zelenog čaja ima značajan pozitivan učinak na smanjenje rizika od nastanka kroničnog atrofičnog gastritisa kod *H. pylori* pozitivnih pacijenata, ali tek nakon konzumacije veće količine čaja ≥ 10 šalica na dan. Unatoč činjenici da je konzumacija zelenog čaja sigurna, potrebna je velika količina za konzumaciju pa je moguće da bi dodatak prehrani standardiziran na epigalokatehin galat imao bolji učinak obzirom da *in vitro* (22) pokazuje protektivni učinak.

Dva ispitivanja (46 i 47) promatrala su učinak hrane na nastanak karcinoma želuca. Analiza podataka talijanske studije pokazala je obrnutu povezanost između neenzimatskog antioksidativnog kapaciteta hrane i nastanka karcinoma želuca. Autori su zaključili da najveći doprinos u zaštitnom učinku imaju citrusno voće te jabuke i kruške. Kao nedostatke studije navode kako je NEAC vrijednost namirnica mjerena *in vitro*, što ne mora nužno biti jednako u *in vivo* uvjetima te navode da nisu posjedovali informacije o *H. pylori* infekciji (46). Unatoč nedostacima studije uspjeli su pokazati da veći unos voća i povrća, umjerena konzumacija vina (jedna čaša na dan) i cjelovite žitarice mogu prevenirati nastanak karcinoma želuca. Ispitivanje (47) je potvrdilo učinak povećanog unosa svježeg i citrusnog voća na smanjenje rizika od nastanka karcinoma želuca kod ispitanika pozitivnih na *H. pylori* (Tablica 5), međutim nije pokazano da kod prisustva *H. pylori* infekcije unos voća i povrća ima pojačani protektivni učinak uspoređujući s učinkom bez prisustva *H. pylori*. U ukupnoj promatranoj populaciji trend smanjivanja rizika pokazala je konzumacija luka i češnjaka. Učinak citrusnog voća objašnjavaju antioksidativnim učinkom vitamina C. Također navode kako dosadašnje studije pokazuju veći protektivni učinak voća u Aziji nego u Europi i Sjedinjenim Američkim Državama pa stoga zaključuju da je vjerojatno veći protektivni učinak u populacijama s većom stopom incidencije karcinoma želuca. Autori smatraju da, unatoč tome što većina promatranih parametara ne pokazuje značajan učinak, unos voća i povrća može imati protektivni učinak na nastanak karcinoma želuca. Trend smanjenja rizika kardijalnog tipa karcinoma želuca pokazuju svježe i citrusno voće, dok povrće, luk i češnjak pokazuju trend smanjenja rizika kod intestinalnog tipa karcinoma želuca. Smatraju da je

potrebno provesti više kohortnih studija u budućnosti kako bi se uspostavila bolja kontrola nad rizičnim faktorima te smanjila incidencija karcinoma želuca.

Dvije studije (17 i 48) pokazale su da mediteranska prehrana pozitivno utječe na smanjenje rizika od nastanka karcinoma. Obje studije analizirale su podatke Europskog prospektivnog istraživanja o karcinomu i prehrani. Buckland i sur. (17) navode da je visoki stupanj pridržavanja mediteranskoj prehrani povezan sa smanjenjem rizika od nastanka karcinoma želuca za 33%, a povećanje pojedinog boda iz osnovne tablice od 18 jedinica smanjivalo je rizik za dodatnih 7%. Couto i sur. (48) dobili su nešto drugačije rezultate i zaključili da bi otprilike 4.7% svih karcinoma u muškoj i 2.4% karcinoma u ženskoj populaciji moglo biti prevenirano ukoliko bi se poboljšao stupanj pridržavanja mediteranskoj prehrani. Unatoč tome što općenito mediteranska prehrana ima pozitivan zaštitni učinak, promatranje pojedinih vrsta namirnica ponekad daje nejasne rezultate. Obje studije imale su nesigurnih rezultata kod promatranja pojedinih vrsta namirnica. No, obje su pokazale da voće doprinosi protektivnom učinku, a da unos mesa nosi povećani rizik od nastanka karcinoma općenito pa tako i karcinoma želuca (tablice 7 i 8). Autori smatraju da pozitivan učinak mediteranske prehrane leži upravo u činjenici da se bazira na biljnim namirnicama više nego na mesu što osigurava prehranu bogatu antioksidansima; kao što su vitamin C, karotenoidi, fenoli i flavonoidi. Ocjenjivanje mediteranske prehrane ima i svoje nedostatke jer se određena namirnica ne raščlanjuje, primjerice kod žitarica su uključene i rafinirane i cjelovite, unos mliječnih proizvoda ocjenjuje se negativno mada je unos kod mediteranske prehrane nizak, a i samo prikupljanje podataka o prehrani ispitanika ne mora biti uvijek točno obzirom da ispitanici sami procjenjuju unose određenih skupina namirnica. Autori se slažu da mediteranska prehrana može doprinijeti preventivnom učinku od nastanka karcinoma općenito pa tako i od nastanka karcinoma želuca. Obzirom da je kod karcinoma želuca loša stopa preživljavanja, pronalazak prehrambenih smjernica koje bi smanjile incidenciju nastanka bolesti predstavljalo bi značajan doprinos u kontroliranju i upravljanju procesom nastanka bolesti.

5. ZAKLJUČAK

Pregledom istraživanja o odnosu probiotika i hrane na *H. pylori* infekciju te bolestima koje nastaju kao posljedica infekcije, izvode se zaključci:

- Probiotici ne pokazuju eradikacijski potencijal na *H. pylori*, ali mogu smanjiti ukupno bakterijsko opterećenje u želucu. Smanjenje ukupnog bakterijskog opterećenja doprinosi smanjivanju intenziteta gastrointestinalnih tegoba vezanih uz infekciju te potencijalno štiti od nastanka bolesti povezanih s *H. pylori* infekcijom. Probiotici poboljšavaju uspjeh standardne terapije eradikacije i u većini slučajeva smanjuju intenzitet nuspojava antibiotika.
- Češnjak ne pokazuje eradikacijski potencijal na *H. pylori* unatoč dokazanom antibakterijskom djelovanju u *in vitro* testovima. Zahvaljujući sposobnosti povećanja koncentracije folata u serumu, češnjak može biti preventivni faktor od nastanka karcinoma želuca.
- Kontinuirana konzumacija soka od brusnice pokazuje sposobnost moduliranja razine bakterijskog opterećenja *H. pylori*, te može biti prevencija komplikacija infekcije te doprinosi poboljšanju učinkovitosti standardne eradikacijske terapije u žena.
- Kontinuirana konzumacija mladih izdanaka brokule bogatih sulforafanom ne pokazuje eradikacijski potencijal, ali rezultati pokazuju protektivni učinak na sluznicu želuca zahvaljujući smanjenju intenziteta upale želuca, smanjenju koncentracije malonaldehida i trendu povećanja koncentracije glutationa te smanjenju bakterijskog opterećenja *H. pylori*.
- Unatoč dokazima da zeleni čaj smanjuje aktivnost *H. pylori in vitro*, protektivni učinak od nastanka kroničnog atrofičnog gastritisa kod *H. pylori* pozitivnih pacijenata očekuje se tek nakon konzumacije ≥ 10 šalica na dan.
- Konzumacija svježeg i citrusnog voća, te luka i češnjaka može prevenirati nastanak karcinoma želuca.
- Mediteranska prehrana pozitivno utječe na smanjenje rizika od nastanka karcinoma želuca.

- Obzirom na visoku prevalenciju *H. pylori* infekcije te njezinu povezanost s rizikom od nastanka karcinoma želuca, pronalazak prehrambenih smjernica koje bi smanjile incidenciju nastanka bolesti predstavljalo bi značajan doprinos u kontroliranju i upravljanju procesom nastanka bolesti.

6. LITERATURA

1. Katičić M, Duvnjak M, Filipec Kanižaj T i sur. Hrvatski postupnik za dijagnostiku i terapiju infekcije *Helicobacterom pylori*. Liječ Vjesn. 2014;136:1-17.
2. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C i sur. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. Gut 2012;61:646-664.
3. Lacy BE, Rosemore J. *Helicobacter pylori*: Ulcers and More: the Beginning of an Era. J Nutr. 2001;131(10):2789S-2793S.
4. <http://www.sciencephoto.com/media/592546/view>.
5. Kalenić S, Plečko V, Presečki V, Katičić M, Dominis M. *Helicobacter pylori* - bakteriološke značajke. Liječ Vjesn. 2002; 124 supl 1:10-13.
6. Strnad M, Presečki V, Babuš V i sur. Epidemiologija infekcije *Helicobacterom pylori*. Liječ Vjesn. 2002; 124 supl 1:5-9.
7. Katičić M, Presečki V, Kalenić S, Dominis M, Filipec T, Papa B. Dijagnostika infekcije *Helicobacterom pylori*. Liječ Vjesn. 2002; 124 supl 1:16-20.
8. Kusters JG. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Rev. 2006;19(3):449-490.
9. Celli JP, Turner BS, Afdhal NH i sur. *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity. Proc Natl Acad Sci USA. 2009;34(106):14321-14326.
10. Diminić - Lisica I, Bergman Marković B, Bukmir L, Bašić Marković N, Radošević Quadranti N, Lisica I. Pristup bolesniku s dispepsijom u obiteljskoj medicini. Acta Med Croatica. 2015;69:271-278.
11. Zullo A, De Francesco V, Hassan C, Morini S, Vaira D. The sequential therapy regimen for *Helicobacter pylori* eradication: a pooled-data analysis. Gut 2007;56:1353-1357.

12. Testerman TL, Morris J. Beyond the stomach: An updated view of *Helicobacter pylori* pathogenesis, diagnosis, and treatment. *World J Gastroenterol*. 2014;20(36):12781-12808.
13. Naito Y, Yoshikawa T. Molecular and cellular mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2002;33(3):323-336.
14. Pavić E, Martinis I, Oreč I, Banić M. Dijetoterapija dispepsije, ulkusne bolesti i gastroezofagealne refluksne bolesti. *Medicus* 2008; 17(1):123-132.
15. Radošević Quadranti N, Diminić-Lisica I, Bašić Marković N, Popović B. Bolesnik s ulkusnom bolesti. *Acta Med Croatica*. 2015;69:287-291.
16. Correa P, Houghton J. Carcinogenesis of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology* 2007;133:659-672.
17. Buckland G, Agudo A, Lujan L. Adherence to a Mediterranean diet and risk of gastric adenocarcinoma within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort study. *Am J Clin Nutr*. 2010;91:381-390.
18. Lesbros-Pantoflickova D, Corthesy-Theulaz I, Blum AL. *Helicobacter pylori* and probiotics. *J Nutr*. 2007;137(3):812S-818S.
19. Homan M, Orel R. Are probiotics useful in *Helicobacter pylori* eradication? *World J Gastroenterol*. 2015;21(37):10644-10653.
20. Delgado S, Leite AMO, Ruas-Madiedo P, Mayo B. Probiotic and technological properties of *Lactobacillus spp.* strains from the human stomach in the search for potential candidates against gastric microbial dysbiosis. *Front Microbiol*. 2014;5:766.
21. Holz C, Busjahn A, Mehling H i sur. Significant Reduction in *Helicobacter pylori* Load in Humans with Non-viable *Lactobacillus reuteri* DSM17648: A Pilot Study. *Probiotics & Antimicro Prot*. 2014;7(2):91-100.

22. Farzaei MH, Abdollahi M, Rahimi R. Role of dietary polyphenols in the management of peptic ulcer. *World J Gastroenterol*. 2015;21(21):6499-6517.
23. Martini S, Bonechi C, Rossi C, Figura N. Increased susceptibility to resveratrol of *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with gastric carcinoma. *J Nat Prod*. 2011;74(10):2257-2260.
24. Zulueta A, Caretti A, Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol: A potential challenger against gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2015;21(37):1036-10643.
25. De R, Kundu P, Swarnakar S i sur. Antimicrobial Activity of Curcumin against *Helicobacter pylori* Isolates from India and during Infections in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2009;53(4):1592-1597.
26. Russo M, Spagnuolo C, Tedesco I, Bilotto S, Russo GL. The flavonoid quercetin in disease prevention and therapy: facts and fancies. *Biochem Pharmacol*. 2012;83(1):6-15.
27. Neto C. Cranberry and Its Phytochemicals: A Review of In Vitro Anticancer Studies. *J Nutr*. 2007;137(1):186S-193S.
28. Burger O, Ofek I, Tabak M, Weiss EI, Sharon N, Neeman I. A high molecular mass constituent of cranberry juice inhibits *Helicobacter pylori* adhesion to human gastric mucus. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2000;29:295-301.
29. Sivam GP. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. *J Nutr*. 2001;131(3s):1106S-1108S.
30. Kangwan N, Park JM, Kim EH, Hahm KB. Quality of healing of gastric ulcers: Natural products beyond acid suppression. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2014;5(1):40-47.
31. Yanaka A, Fahey JW, Fukumoto A i sur. Dietary sulforaphane-rich broccoli sprouts reduce colonization and attenuate gastritis in *Helicobacter pylori*-infected mice and humans. *Cancer Prev Res*. 2009;2(4):353-360.

32. Fahey J, Haristoy X, Dolan P, Kensler T, Scholtus I, Stephenson K i sur. Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99(11):7610-7615.
33. Mehling H, Busjahn A. Non-viable *Lactobacillus reuteri* DSMZ 17648 (Pylopass™) as a new approach to *Helicobacter pylori* control in humans. Nutrients 2013;5(8):3062-3073.
34. Francavilla R, Lionetti E, Castellaneta SP i sur. Inhibition od *Helicobacter pylori* infection in humans by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 and effect on eradication therapy: a pilot study. Helicobacter 2008;13(2):127-134.
35. Kotzev IA, Mirchev MB, Atanasova MV i sur. The effect of *L. reuteri* (ProGastria) on the eradication rate in elderly patients infected with *H. pylori*: a randomized, double-blinded, placebo controlled trial. J Prob Health. 2015;3(2):130.
36. Hauser G, Salkic N, Vukelic K, Jajac Knez A, Stimac D. Probiotics for Standard Triple *Helicobacter pylori* Eradication. Medicine 2015;94(17):e685.
37. Emara MH, Mohamed SY, Abdel-Aziz HR. *Lactobacillus reuteri* in management of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients: a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial. Ther Adv Gastroenterol. 2014;7(1):4-13.
38. Dajani AI, Abu Hammour AM, Yang DH i sur. Do probiotics improve eradication response to *Helicobacter pylori* on standard triple or sequential therapy? Saudi J Gastroenterol. 2013;19(3):113-120.
39. Dang Y, Reinhardt JD, Zhou X, Zhang G. The Effect of Probiotics Supplementation on *Helicobacter pylori* Eradication Rates and Side Effects during Eradication Therapy: A Meta-Analysis. PLoS ONE. 2014;9(11):e111030.

40. Ma JL, Zhang L, Brown LM i sur. Fifteen-Year Effects of *Helicobacter pylori*, Garlic, and Vitamin Treatments on Gastric Cancer Incidence and Mortality. J Natl Cancer Inst. 2012;104(6):488-492.
41. Wang Y, Zhang L, Moslehi R i sur. Long-term garlic or micronutrient supplementation, bur not anti-*Helicobacter pylori* therapy, increases serum folate or glutathione without affecting serum vitamin B12 or homocisteine in a rural Chinese population. J Nutr. 2009;139:106-112.
42. Gotteland M, Andrews M, Toledo M i sur. Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and *Lactobacillus johnsonii* La1 in children. Nutrition 2008;24(5):421-426.
43. Shmueli H, Yahav J, Samra Z, Chodick G, Koren R, Niv Y, Ofek I. Effect of cranberry juice on eradication of *Helicobacter pylori* in patients treated with antibiotics and a proton pump inhibitor. Mol Nutr Food Res. 2007;51(6):746-751.
44. Chang YW, Jang JY, Kim YH, Kim JW, Shim JJ. The effects of broccoli sprout extract containing sulforaphane on lipid peroxidation and *Helicobacter pylori* infection in the gastric mucosa. Gut and Liver 2015;9(4):486-493.
45. Shibata K, Moriyama M, Fukushima T, Kaetsu A, Miyazaki M, Une H. Green tea consuption and chronic atrophic gastritis: A cross - sectional study in a green tea production village. J Epidemiol. 2000;10(5):310-316.
46. Praud D, Parpinel M, Serafini M i sur. Non-enzymatic antioxidant capacity and risk of gastric cancer. Cancer Epidemiol. 2015;39(3):340-345.
47. Gonzalez AC, Pera G, Agudo A i sur. Fruit and vegetable intake and the risk of stomach and oesophagus adenocarcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC- EURGAST). Int J Cancer. 2006;118(10):2559-2566.
48. Couto E, Boffetta P, Lagiou P i sur. Mediterranean dietary pattern and cancer risk in the EPIC cohort. Br J Cancer. 2011;104(9):1493-1499.