

**UNIVERZA NA PRIMORSKEM  
FAKULTETA ZA VEDE O ZDRAVJU**

**POVEZAVA ČREVESNE MIKROBIOTE IN  
ALZHEIMERJEVE BOLEZNI**

**ZAKLJUČNA PROJEKTNA NALOGA**

Študentka: LINA HABJANIČ

Mentorica: dr. KATJA BEZEK

Študijski program: študijski program 1. stopnje Prehransko svetovanje -  
dietetika

**Izola, 2019**

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentorici dr. Katji Bezek za vso izkazano pripravljenost in pomoč pri usmeritvi ob pripravi te zaključne naloge. Prav tako se želim ob tej priložnosti zahvaliti staršem, prijateljem in partnerju, da so vsaj malo verjeli vame na tej moji dolgotrajni študijski poti.

Nalogo, kljub svoji skromnosti, želim posvetiti vsem, ki so jih ugotovitve znanosti dosegle prepozno ali pa sploh ne.

## IZJAVA O AVTORSTVU

Spodaj podpisani-a *Habjanič Lina* izjavljam, da:

- je predložena zaključna projektna naloga izključno rezultat mojega dela;
- sem poskrbela, da so dela in mnenja drugih avtorjev, ki jih uporabljam v predloženi nalogi, navedena oziroma citirana v skladu s pravili UP Fakultete za vede o zdravju;
- se zavedam, da je plagiatstvo po Zakonu o avtorskih in sorodnih pravicah, Uradni list RS št. 16/2007 (v nadaljevanju ZASP) kaznivo.

Soglašam z objavo zaključne projektne naloge v Repozitoriju UP.

Izola, 05.09.2019

Podpis študenta-ke:



## KLJUČNE INFORMACIJE O DELU

<b>Naslov</b>	Povezava črevesne mikrobiote in Alzheimerjeve bolezni
<b>Tip dela</b>	zaključna projektna naloga
<b>Avtor</b>	HABJANIČ, Lina
<b>Sekundarni avtorji</b>	BEZEK, Katja (mentorica) / BARLIČ MAGANJA, Darja (recenzentka)
<b>Institucija</b>	Univerza na Primorskem, Fakulteta za vede o zdravju
<b>Naslov inst.</b>	Polje 42, 6310 Izola
<b>Leto</b>	2019
<b>Strani</b>	V, 30 str., 40 vir
<b>Ključne besede</b>	mikrobiota, mikrobiom, Alzheimerjeva bolezen, prehrana.
<b>UDK</b>	616.894:613.34
<b>Jezik besedila</b>	slv
<b>Jezik povzetkov</b>	slv/eng
<b>Izvleček</b>	<p>Podaljšana življenjska doba svetovnega prebivalstva s seboj prinese tudi večje število nevrodegenerativnih bolezni, kot je Alzheimerjeva bolezen (AB). Poleg staranja, na pojavnost vpliva tudi življenjski slog posameznika in z njim povezane prehranjevalne navade. V povezavi s tem se kot ena izmed možnih terapevtskih tehnik omenja tudi uravnavanje sestave črevesne mikrobiote. S pregledom literature smo prikazali trenutno stanje s področja povezave črevesne mikrobiote in Alzheimerjeve bolezni ter morebitnih novejših dognanj s področja prehranskih intervencij, oziroma preventivnih prehranskih ukrepov za preprečevanje nastanka AB. Ugotovili smo, da črevesna mikrobiota preko imunskega sistema in mikrobnih metabolitov vpliva na stopnjo vnetja pri AB ter tako na sam razvoj in potek bolezni. Natančen mehanizem še ni znan. Na sestavo črevesne mikrobiote vpliva veliko število dejavnikov, med katerimi je tudi prehrana. Kljub temu je število klinično dokazanih prehranskih intervencij pri ljudeh z AB majhno, težava pa je tudi sama primerljivost rezultatov. Večina priporočil izhaja predvsem iz preprečevanja dejavnikov tveganja, ki veljajo za to bolezen. Kot preventivni prehranski ukrep se priporoča predvsem prehranjevanje v skladu z mediteranskim vzorcem prehranjevanja ter ti. DASH dieta, katerima smo posvetili zaključni del naloge.</p>

## KEY WORDS DOCUMENTATION

<b>Title</b>	The relationship between the gut microbiota and Alzheimer's disease
<b>Type</b>	Final project assignment
<b>Author</b>	HABJANIČ, Lina
<b>Secondary authors</b>	BEZEK, Katja (supervisor) / BARLIČ MAGANJA, Darja (reviewer)
<b>Institution</b>	University of Primorska, Faculty of Health Sciences
<b>address</b>	Polje 42, 6310 Izola
<b>Year</b>	2019
<b>Pages</b>	V, 30 p., 40 ref.
<b>Keywords</b>	microbiome, microbiota, Alzheimer's disease, nutrition.
<b>UDC</b>	616.894:613.34
<b>Language</b>	slv
<b>Abstract language</b>	slv/eng
<b>Abstract</b>	<p>One of the results of an aging population is also the occurrence of a higher number of neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease. Along with the aging process, lifestyle and eating habits are the main contributors to the increased incidence of the disease. According to this, the manipulation of the gut microbiota composition is emerging as one of the possible therapeutic options. We have found that microbiota and Alzheimer's disease are connected via the immune system and via several microbial metabolites that can modulate the level of inflammation which is connected to Alzheimer's disease occurrence and progression. The aim of this final project assignment is to present the current knowledge about the relationship between gut microbiota and Alzheimer's disease and further to elucidate possible preventative nutrition strategies in neurodegenerative disorder development. What we have found is that there are currently no clinically proven nutrition intervention strategies and that the vast majority of recommendations come from minimizing known risk factors for the development of Alzheimer's disease thus the focus is given to proven preventative strategies. In this regard two dietary patterns are recommended – the Mediterranean diet and the DASH diet, both of which we mentioned in the paper.</p>

## KAZALO VSEBINE

KLJUČNE INFORMACIJE O DELU .....	I
KEY WORDS DOCUMENTATION .....	II
KAZALO VSEBINE.....	III
SEZNAM KRATIC.....	IV
1 UVOD .....	1
2 NAMEN, HIPOTEZE IN RAZISKOVALNO VPRAŠANJE.....	3
3 METODE DELA IN MATERIALI .....	4
3.1 Metoda pregleda literature.....	4
4 REZULTATI.....	5
4.1 Alzheimerjeva bolezen – vzroki in dejavniki tveganja .....	5
4.1.1 Genetski dejavniki tveganja .....	6
4.1.2 Okoljski dejavniki tveganja.....	6
4.2 Črevesna mikrobiota in Alzheimerjeva bolezen.....	10
4.2.1 Mikrobni amiloidi .....	11
4.2.2 Lipopolisaharidi .....	11
4.2.3 Kratkoverižne maščobne kisline .....	12
4.2.4 Živčni prenašalci .....	12
4.3 Povezava med črevesno mikrobioto, imunskim sistemom in možgani.....	13
4.3.1 Vnetje in Alzheimerjeva bolezen .....	14
4.3.2 Higienska hipoteza .....	16
4.4 Neravnovesje v sestavi črevesne mikrobiote v povezavi z nevrodegenerativnimi boleznimi .....	16
4.4.1 Sindrom prepuščajočega črevesja .....	17
4.5 Alzheimerjeva bolezen in možne prehranske intervencije.....	17
4.5.1 Vpliv probiotikov, prebiotikov, simbiotikov in antibiotikov na Alzheimerjevo bolezen .....	18
a) <i>Probiotiki</i> .....	18
c) <i>Antibiotiki</i> .....	20
4.5.2 Mediteranska dieta .....	20
5 RAZPRAVA .....	24
6 ZAKLJUČEK .....	26
7 VIRI .....	27

## SEZNAM KRATIC

A $\beta$	Beta-amyloid, beta amiloid
AB	Alzheimerjeva bolezen
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid Precursor Protein, amiloidni prekuzorski protein
CŽS	Centralni živčni sistem
DASH	Dietary Approach to Stop Hypertension, prehranski pristop k preprečevanju hipertenzije
GABA	Gamma-aminobutyric acid, gama aminomaslena kislina
IL-1	Interleukin-1 – Interlevkin-1
IL-1 $\beta$	Interlevkin-1-beta
IL-5	Interlevkin-5
IL-6	Interlevkin-6
IL-8	Interlevkin-8
KMP	Krvno-možganska pregrada
KVMK	Kratkoverižne maščobne kisline
LPS	Lipopolysaccharides, lipopolisaharidi
MeDi	Mediterranean diet, mediteranska prehrana
NMDA	N-metil-D-aspartat
PSEN1	presinilin 1
PSEN2	presinilin 2
ROS	Reactive oxidative species, reaktivne kisikove zvrsti
TGF- $\beta$	Transforming growth factor-beta, transformirajoči rastni faktor beta
TNF	Tumor Necrosis Factor, tumor nekrotizirajoči faktor

TNF- $\alpha$  Tumor Necrosis Factor-Alpha, tumor nekrotizirajoči faktor alfa

VNMK Večkrat nenasičene maščobne kisline



## 1 UVOD

Demenca je sindrom, ki prizadene spomin in druge kognitivne funkcije do te mere, da otežuje vsakodnevno življenje (Cattaneo, Catane, Galluzzi, Provasi, Lopizzo in Festari, 2017). Kognitivne funkcije se delijo na osnovne kognitivne funkcije – pozornost, delovni spomin, dolgotrajni spomin, dojemanje – ter na višje kognitivne funkcije – govor in jezik, zmožnost sprejemanja odločitev, nadzorne funkcije (Peña-Altamira, Petralla, Massenzio, Virgili, Bolognesi in Monti, 2017). Alzheimerjeva bolezen (v nadaljevanju AB) je najpogostejša oblika demence nevrodegenerativnega obolenja pri starejših (M. Luca, Marco di Mauro, Maurizio di Mauro in A. Luca, 2019). Glede na to, kdaj se bolezen pojavi, lahko Alzheimerjevo bolezen razdelimo na tisto, ki nastopi zgodaj v življenju, pred 65. letom, in na tisto, ki se pojavi pozneje, to je po 65. letu starosti (Kowalski in Mulak, 2019). Tako lahko govorimo o dedni obliki AB, z znanimi genetsko pogojenimi dejavniki tveganja, in sporadični obliki, za katero vzrok nastanka še ni pojasnjen (Harding, Gonder, Robinson, Crean in Singhrao, 2017; Peña-Altamira idr., 2017). Kaže se kot napredujoče slabšanje kognitivnih zmožnosti, ki se začne s slabšanjem spomina (Kowalski in Mulak, 2019), ter drugimi pridruženimi simptomi, kot sta telesna disfunkcija in utrujenost (Sherwin, Dinan in Cryan, 2017), v končni fazi pa privede do smrti (Cattaneo, idr. 2017). Tako so bolniki zmeraj bolj odvisni od pomoči drugih (Jin, Singh, Chung in Hong, 2018).

Čeprav vzrok nastanka bolezni ni popolnoma znan (Chen idr., 2017), patološki kazalniki AB vključujejo atrofijo hipokampusa, zunajcelično kopičenje beta amiloidnih plakov in znotrajcelično kopičenje pentelj hiperfosforiliranega tau proteina. Te spremembe lahko opazimo tudi nekaj desetletij pred samim nastopom kognitivnega upada in vedenjskih motenj (Luca idr., 2019). Kot navajata Dominguez in Barbagallo (2018), za zdaj ne poznamo učinkovitega farmakološkega zdravljenja za s starostjo pogojen kognitivni upad, zato se zmeraj bolj poudarja pomen raznih preventivnih strategij. Mednje sodijo tudi nedavno odkrite povezave med prehrano in kognitivnimi zmožnostmi. Ne le preprečevanje bolezni, tudi odlog nastopa bolezni bi lahko znatno pripomogel k stanju javnega zdravja (Dominguez in Barbagallo, 2018). Avtorja nadalje še ugotavljata, da čeprav se je splošna nega ljudi, ki trpijo za demenco, izboljšala, je vseeno opaziti pomanjkanje razpoložljivih in učinkovitih intervencij, ki bi bile zmožne izboljšati potek bolezni (Dominguez in Barbagallo, 2018).

Študije preučevanja vpliva črevesne mikrobiote na delovanje možganov nakazujejo na povezavo med črevesno mikrobioto in kognicijo. Če vzamemo v obzir, da je Alzheimerjeva bolezen opredeljena kot zmanjšana možnost kognicije, potem lahko predvidevamo, da ima morda črevesna mikrobiota vpliv pri razvoju Alzheimerjeve bolezni (Jiang, Li, Huang, Liu in Zhao, 2017). Črevesna mikrobiota je sestavljena iz trilijonov simbiotičnih mikroorganizmov in je nepogrešljiv element pri ohranjanju zdravja gostitelja (Giau, Wu, Jamerlan, An, Kim in Hulme, 2018; Marungruang, 2018). Mikrobiota človeškega prebavnega trakta vsebuje kar  $10^{14}$  mikroorganizmov na gram vsebine, ki izvirajo iz vsaj tisoč različnih mikrobnih vrst (Jiang idr., 2017). Vsak posameznik ima edinstveno sestavo črevesne mikrobiote (Marungruang, 2018), pri čemer je približno ena tretjina mikrobiote enake, medtem ko se

preostali dve tretjini razlikujeta od posameznika do posameznika (Luca idr., 2019). Na njeno sestavo vpliva več dejavnikov, vključno z genetskimi, prehrano, metabolizmom, starostjo, življenjskim prostorom, rabo antibiotikov in izpostavljenostjo stresu (Akbari idr., 2016).

Sprememba sestave črevesne mikrobiote ali disbioza lahko tako predstavlja vzrok ali pa posledico različnih bolezenskih stanj (Rinninella idr., 2019). Porušenje homeostaze črevesne mikrobiote se kaže v razvoju številnih obolenj, kot so kolorektalni rak, metabolni sindrom, debelost, alergije, kronične vnetne črevesne bolezni, diabetes tipa 2 in srčno-žilne bolezni (Chen idr., 2017; Magarian-Blander, Longman, Iliev, Sonnenberg in Artis, 2017). Prav tako naj bi bila disbioza eden od dejavnikov vnetnega odziva v možganih in predstavlja tveganje za razvoj nevrodegenerativnih bolezni (Wu, Cao, Chang in Juang, 2017). S tem se strinjajo tudi Akbari idr. (2016), ki pravijo, da, sodeč po dokaznem gradivu, obstaja jasna povezava med spremembami v sestavi mikrobiote in kognitivnimi zmožnostmi. Podobno trdijo tudi Chen idr. (2017), ki zagovarjajo, da lahko spremembe v sestavi črevesne mikrobiote vodijo do sprememb v delovanju možganov in tako vplivajo na samo delovanje gostitelja. Isti avtorji navajajo tudi, da se prehrana vse bolj omenja kot tisti ključni okoljski dejavnik, ki ureja sestavo in metabolno funkcijo črevesne mikrobiote (Chen idr., 2017).

## **2 NAMEN, HIPOTEZE IN RAZISKOVALNO VPRAŠANJE**

Z naraščajočim trendom raziskav na področju črevesne mikrobiote opazamo, da obstaja vse več trdnih dokazov, ki kažejo v smeri povezave med stanjem oziroma sestavo črevesne mikrobiote in pojavnostjo raznih nenalezljivih bolezni, med katere sodijo številne oblike demence, tudi Alzheimerjeva bolezen. Namen te zaključne naloge je ugotoviti, ali lahko sestava črevesne mikrobiote vpliva na razvoj in potek Alzheimerjeve bolezni, med drugim tudi, kako naj bo zdrava črevesna mikrobiota sestavljena, da z njo zagotovimo ravnotežje v komunikaciji med možgani in črevesjem. Poudarek smo dali preventivnim ukrepom oziroma zmanjšanju dejavnikov tveganja za metabolne in nevrodegenerativne bolezni. Trenutna dognanja s področja povezave črevesne mikrobiote in Alzheimerjeve bolezni so še v povojih, zato smo se odločili narediti pregled trenutnega stanja s tega področja. Skladno s tem smo si zastavili naslednja raziskovalna vprašanja:

- Kakšna so trenutna dognanja s področja povezave med črevesno mikrobioto in patogenezo Alzheimerjeve bolezni?
- Ali lahko s prehransko intervencijo vplivamo na sestavo črevesne mikrobiote in s tem na potek Alzheimerjeve bolezni?

### **3 METODE DELA IN MATERIALI**

#### **3.1 Metoda pregleda literature**

V obdobju od aprila do junija 2019 smo pregledali ključno literaturo aktualnih dognanj s področja povezave črevesne mikrobiote in Alzheimerjeve bolezni. Do znanstvenih in strokovnih člankov smo dostopali prek specializiranih zbirk podatkov, in sicer EBSCO, ScienceDirect, Google Učenjak ter ResearchGate. Pri iskanju virov smo si pomagali tudi z gradivom, ki nam je bilo posredovano v sklopu študentskega projekta nePOZAB in je prav tako dostopno prek omenjenih iskalnikov. Uporabili smo naslednje ključne besede in njihove kombinacije: mikrobiom (angl. »microbiome«), črevesna mikrobiota (angl. »gut microbiota«), demenca (angl. »dementia«), Alzheimerjeva bolezen (angl. »Alzheimer's disease«), kronične nenalezljive bolezni (angl. »non communicable diseases – NCDs«).

## 4 REZULTATI

### 4.1 Alzheimerjeva bolezen – vzroki in dejavniki tveganja

Zaradi zapletenosti delovanja človeških možganov ter pomanjkanja primernih živalskih modelov in raziskovalnih pripomočkov je natančen razvoj Alzheimerjeve bolezni še zmeraj neznan (Du, Wang in Geng, 2018). Najpogosteje uporabljena hipoteza za razlago nastanka Alzheimerjeve bolezni je tako imenovana amiloidna hipoteza (Jin idr., 2018). Znano je, da se AB kaže kot zunajcelično kopičenje beta amiloidnih (angl. »amyloid precursor protein« – v nadaljevanju: A $\beta$ ) peptidov v senilnih plakih in znotrajcelično kopičenje hiperfosforiliranih tau zank (Kowalski in Mulak, 2019). A $\beta$  je peptid, ki je sestavljen iz 36 do 43 aminokislin, ki nastanejo s pomočjo velikega transmembranskega glikoproteina – npr. amiloidnega prekursorskega proteina (angl. »amyloid precursor protein« – v nadaljevanju: APP) (Chen idr., 2017). Obstaja več poti proteolize amiloidnega prekursorskega proteina, nekatere od teh vodijo do nastanka A $\beta$ , druge spet ne. Proteoliza APP, ki poteka prek beta in gama sekretaz, sproži nastanek A $\beta$ , medtem ko proteoliza z alfa sekretazo prepreči nastanek A $\beta$  (Marungruang, 2018). A $\beta$  lahko sproži razne vnetne in nevrotoksične procese, vključno s pretirano proizvodnjo prostih radikalov, ter povzroča oksidativno škodo na znotrajceličnih beljakovinah in drugih makromolekulah (Chen idr., 2017). Pri bolnikih, ki trpijo za AB, je dotok krvi v možgane povišan, medtem ko je odtok krvi iz njih zmanjšan. To pomeni, da A $\beta$  ne prečka krvno-možganske pregrade in ostane ujet v možganih (Hu, Wang, Jin idr., 2018). Vse to posledično sproži aktivacijo imunskega odgovora s strani možganske mikroglije. Ta imunski odgovor sprva omogoča izplavljanje odvečnega A $\beta$ , vendar se z leti vnetni odgovor poveča, kar sčasoma privede do povečanega kopičenja A $\beta$  plakov, ki nato povzročijo nepravilno delovanje sinaps, propad nevronov, vnetje živcev in oksidativni stres (Luca idr., 2019). Za tau protein Jin idr. (2018) navajajo, da gre za protein, ki ga sintetizirajo nevrone celice in ga povezujemo z mikrotubuli. Odgovoren je za stabilizacijo mikrotubulov, ki zagotavljajo nemoteno opravljanje nevronskih funkcij. Isti avtorji navajajo, da naj bi odvečna proizvodnja beta A $\beta$ -42 oligomerov spodbudila hiperfosforilacijo tau proteina in tako sprožila domino efekt pri napredovanju bolezni. Nitke tau proteina se kopičijo in sčasoma tvorijo neurofibrilarne zanke, ki pa so eden od patoloških kazalnikov Alzheimerjeve bolezni (Jin idr., 2018). Po drugi strani Giaio idr. (2018) navajajo, da nedavne študije predpostavljajo, da ta model nastanka AB ne razloži razvoja AB dovolj natančno, in pomembno vlogo pri napredovanju bolezni pripisujejo tudi mikrobiomu. Podobno skleneta tudi Kowalski in Mulak (2019), ki pravita, da še zmeraj ni znano, kaj točno sproži nastanek amiloidnih plakov, vendar slednje povezujejo z delovanjem črevesne mikrobiote. Kljub nekoliko nasprotujočim si dokazom je znanih več genetskih in okoljskih dejavnikov tveganja za nastanek AB (Luca idr., 2019). Trenutno velja, da je kombinacija genetskih in okoljskih dejavnikov tista, ki pripomore k nastanku AB (Hu idr., 2016). Med tiste dejavnike tveganja, na katere lahko vplivamo, je bilo posebej veliko pozornosti posvečene vlogi črevesne mikrobiote pri vzdrževanju nizke stopnje s starostjo pogojenega vnetja (Luca idr., 2019). Najpomembnejši neodvisni napovednik kognitivnega upada je starost posameznika, vendar tudi dejavniki, kot so demografski položaj, genetska predispozicija, družbenoekonomski status ter drugi okoljski

dejavniki, kot je prehrana, prav tako pri tem igrajo pomembno vlogo (Dominguez in Barbagallo, 2018).

#### 4.1.1 Genetski dejavniki tveganja

Čeprav je poglavitni dejavnik tveganja za razvoj AB starost posameznika, obstajajo tudi drugi dejavniki, ki igrajo vlogo pri razvoju AB, kot so družinska anamneza, prisotnost določenih genov in razni kardiovaskularni dejavniki (Jiang idr., 2017). Alzheimerjeva bolezen, ki nastopi pred 65. letom, predstavlja približno 1 do 5 odstotkov vseh primerov te bolezni in se v veliki meri povezuje z mutacijami na APP, na genih za presiniline (v nadaljevanju: PSEN1 in PSEN2); slednji se dedujejo avtosomno dominantno (Kowalski in Mulak, 2019). Kot navaja Marungruang (2018), ti geni kodirajo beljakovine, vključene v razkroj APP, in so tako torej posredno vključeni v proizvodnjo A $\beta$ . Kowalski in Mulak (2019) nadalje trdita, da glede na te genske mutacije lahko pride do naslednjih stanj: povečanje celokupne proizvodnje A $\beta$ , povečanje amiloidogene variacije proteina A $\beta$ 42 ali pa sprememba v zaporedju aminokislin, kar še poveča agregacijski potencial A $\beta$ .

Drugi genetski dejavnik predstavljajo poliformizmi na apolipoproteinih. To je družina proteinov, ki sodelujejo pri homeostazi lipidov; njihova naloga je, da vežejo in transportirajo lipide po limfnem in krvno-žilnem sistemu (Mendiola-Precoma, Berumen, Padilla in Garcia-Alcocer, 2016). Apolipoprotein E (v nadaljevanju: ApoE) je glikoprotein, sestavljen iz 299 aminokislin, njegova struktura pa se spreminja in je odvisna od genetskega polimorfizma (Mendiola-Precoma idr., 2016). ApoE je eden od najpogostejših genov, ki ima polimorfizme na treh alelih:  $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3 in  $\epsilon$ 4. Med temi je  $\epsilon$ 2 zaščitni alel,  $\epsilon$ 3 nevtralni alel in  $\epsilon$ 4 alel z visoko stopnjo tveganja za nastanek AB (Hu idr., 2016). Ljudje z le eno kopijo ApoE  $\epsilon$ 4 imajo kar dva- do trikrat povečano tveganje za nastanek AB (Marungruang, 2018).

#### 4.1.2 Okoljski dejavniki tveganja

Podedovanih genov žal ne moremo spremeniti, vendar pa obstaja tudi več drugih, negenetskih dejavnikov za nastanek Alzheimerjeve bolezni (Hu idr., 2016). Tako lahko zgodnji nastop bolezni, starost posameznika, nizka stopnja izobrazbe in slabo zdravstveno stanje vplivajo tako na stopnjo pogostosti bolezni kot na stopnjo kognitivnega upada. Povišani biomarkerji za oksidativni stres, vnetje in kronično živčno vnetje naj bi bili povezani z veliko nevrodegenerativnimi motnjami centralnega živčnega sistema (v nadaljevanju: CŽS), vključno z AB. Predhodne študije so pokazale, da so metabolne spremembe, kot so inzulinska rezistenca, hiperglikemija in dislipidemija povezane tako s patogenezo kot z razvojem bolezni. Spremembe v vnosu mikrohranil pa naj bi bile prav tako dejavnik tveganja za razvoj AB (Akbari idr., 2016). V nadaljevanju smo po vrsti opisali nekatere najbolj izpostavljene okoljske dejavnike tveganja. To so starost, sodobni način prehranjevanja, pomanjkanje vitaminov, uživanje alkohola, oksidativni stres in debelost.

### *a) Starost*

Peña-Altamira idr. (2017) po besednjaku Merriam-Webster povzamejo opredelitev staranja kot »postopno spremembo znotraj organizma, ki vodi v povišano tveganje za šibkost, bolezen in smrt«. Proces staranja je tesno povezan s kognitivnim upadom, ki se kaže kot poslabšanje delovnega spomina, zmanjšana hitrost procesiranja informacij in zmanjšana pozornost (Klímová in Vališ, 2018). Stopnja in resnost kognitivnega upada nihata od normalnega, s starostjo pogojenega, do kroničnega poslabšanja, povezanega z nevrodegenerativnimi boleznimi, kot je AB (Klímová in Vališ, 2018). Kot navajajo Jiang idr. (2017), je staranje prav tako povezano s pretirano stimulacijo prirojene in pridobljene imunosti, kar ima za posledico nizko stopnjo kroničnega vnetja, ki lahko nato povzroči povečano prepustnost črevesne stene in translokacijo črevesnih bakterij.

V luči tega Sherwin idr. (2017) izpostavljajo vpliv staranja tudi na delovanje osi mikrobiota-črevesje-možgani, kar nam lahko ponudi boljši vpogled v s starostjo pogojena bolezenska stanja, kot so kap in razne nevrodegenerativne bolezni. Drugi avtorji dodatno pojasnijo in pravijo, da je stanje nizkopenjskega kroničnega vnetja povezano z nepretranim vnetnim stanjem črevesne sluznice, ki ga sprožijo s starostjo pogojene spremembe v sestavi črevesne mikrobiote. Za te spremembe sta značilni zmanjšana raznolikost in stabilnost črevesne mikrobne populacije. To nato vodi v povečano prepustnost črevesne pregrade, kar dodatno zviša koncentracije provnetnih citokinov in bakterijskih produktov v krvi ter povzroči okvaro krvno-možganske pregrade in vnetje živcev (Kowalski in Mulak, 2019). S tem se tudi povezuje povišanje v številu in velikosti mikroglije, ki lahko privede do vnetnega stanja (Alkasir, Li, J., Li, X., Jin in Zhu, 2017).

### *b) Sodobni način prehranjevanja*

Za sodobni način prehranjevanja je značilno, da vsebuje visoke količine holesterola, nizke vsebnosti topnih in netopnih prehranskih vlaknin ter veliko dodane soli in sladkorja, kar ne prinaša le slabe prehranjenosti posameznika, temveč vpliva tudi na črevesno mikrobioto (Hill, Bhattacharjee, Pogue in Lukiw, 2014). Ta način prehranjevanja lahko sodeluje tudi pri razvoju vnetja živcev; deloma tudi tako, da spremeni količino določenih črevesnih bakterij. Nekaterne bakterije namreč spodbudijo prirojeni imunski sistem, da začne proizvajati večje količine citokinov v možganih (Noble, Hsu in Kanoski, 2017). Takšna hrana, ki vsebuje visoke količine vnetnih dejavnikov, je tudi povezana s slabšim kognitivnim uspehom in upadom (McGrattan idr., 2019). Noble idr. (2017) pravijo, da hrana, ki vsebuje večje količine nasičenih maščob in dodanih sladkorjev, negativno vpliva na miselne funkcije.

Hipokampus, območje možganov, ki ga povezujemo z določenimi učnimi procesi in procesi pomnjenja, je posebej občutljiv na uničevalne učinke sodobnega načina prehranjevanja (Noble idr., 2017). Natančen mehanizem, kako tak način prehranjevanja vpliva na možgane, ni znan, vendar se predvideva, da povezava med črevesjem in možgani igra ključno vlogo (Noble idr., 2017). Isti avtorji nadaljujejo in predlagajo, da so morebitni mehanizmi, ki povezujejo tovrstni način prehranjevanja s spremembami v sestavi črevesne mikrobiote in

kognitivnim upadom, povezani s prepustnostjo črevesne in krvno-možganske pregrade, vnetjem živcev in poslabšano inzulinsko signalizacijo (Noble idr., 2017). Diete z visoko vsebnostjo enostavnih ogljikovih hidratov imajo namreč negativni učinek na inzulinsko rezistenco, povečajo vnetje, prav tako pa poslabšajo delovanje krvno-možganske pregrade (Harding idr., 2017). Dolgotrajno uživanje alkohola negativno vpliva na prirojen imunski sistem, saj ga povezujemo s povečanimi vrednostmi kazalnikov vnetja. Nasprotno pa uživanje alkohola v zmernih količinah zmanjša tveganje za razvoj kardiovaskularnih bolezni in AB. Zmerne količine vina imajo lahko tudi protivnetni učinek in lahko tako zmanjšajo tveganje za razvoj kroničnih bolezni, med katere spada tudi AB (Harding idr., 2017).

#### *c) Pomanjkanje vitaminov*

Pomemben vitamin v povezavi z nastankom AB je 25-hidroksivitamin D, saj je njegova nizka vsebnost povezana s kardiovaskularnimi obolenji, diabetesom tipa 2 in depresijo; vsi ti so namreč dejavniki tveganja za nastanek AB. Iz tega razloga je spremljanje vrednosti vitamina D pri starejših, s povečanim tveganjem za razvoj AB, toliko pomembnejše (Harding idr., 2017). Enako pomembno je spremljanje vitamina B. Kot kaže, imajo vitamini te skupine pomembno zaščitno vlogo pri nastanku in razvoju AB. Ne zadostne količine vitaminov skupine B (folat, B12, B6) so povezane s kognitivnim upadom in pojavnostjo demence pri starejših (Harding idr., 2017). Pomanjkanje vitamina B12 je pomemben dejavnik tveganja za pojav demence. Nizke vsebnosti tega vitamina v krvnem serumu se namreč povezujejo z nastankom tako Alzheimerjeve bolezni kot tudi blage kognitivne motnje (Hu idr., 2016).

#### *d) Debelost*

Debelost je stanje kroničnega, nizkostonenjskega vnetja (Jiang idr., 2017), ki ga sprožita kopičenje in aktivacija makrofagov v maščobnem tkivu (Dominguez in Barbagallo, 2018). Danes velja za ključni dejavnik tveganja za razvoj diabetesa tipa 2 (Jiang idr., 2017). Dejavniki tveganja za razvoj kardiovaskularnih bolezni in diabetesa tipa 2 pa so prav tako dejavniki tveganja za razvoj kognitivnega upada ter AB (Dominguez in Barbagallo, 2018). Maščobno tkivo namreč ni le skladišče maščobe, ampak je tudi največji endokrini organ v telesu. Ta namreč izloča hormone, citokine in rastne faktorje (Daulatzai, 2014). Debelost lahko poslabša delovanje možganov in poveča tveganje za nastanek AB (Hu idr., 2016), saj se povezuje z zmanjšanim volumnom hipokampusu in njegovim oslabljenim delovanjem (Noble idr., 2017). Kot navajata Dominguez in Barbagallo (2018), so pri debelih ljudeh našli tudi povišane plazemske vrednosti amiloida. Ista avtorja dodajata, da lahko debelost sproži spremembe že v razvijajočih se možganih otrok in mladostnikov, kar pa ima lahko dolgotrajne posledice (Dominguez in Barbagallo, 2018). Debelost je prav tako, kot navaja Daulatzai (2014), tesno povezana s povišanimi vsebnostmi reaktivnih kisikovih zvrsti, ki spodbudijo kognitivni upad.



#### *e) Oksidativni stres*

Oksidativni stres je pogost spremljevalec AB. Čeprav njegova vloga še ni popolnoma razumljena (Akbari idr., 2016), ga štejejo kot ključni dejavnik pri izgubi nevronov (Luca idr., 2019). Možgani so namreč še posebej občutljivi na oksidativne poškodbe. Metabolizem možganov potrebuje velike količine energije in je odvisen od aerobnih pogojev. Prav tako je prisotnih veliko polinenasičenih maščobnih kislin, ki lahko oksidirajo, in prehodnih kovin, ki povzročajo nastanek prostih radikalov (Dominguez in Barbagallo, 2018). Reaktivne kisikove zvrsti (angl. »reactive oxidative species«, v nadaljevanju: ROS) povečini proizvajajo mitohondriji in so stranski produkt celičnega metabolizma. Mednje štejemo proste radikale – superoksidge, hidroksil radikale (ki so najbolj reaktivni) in neradikale, kot je vodikov peroksid (M. Luca, A. Luca in Calandra, 2015). Znano je, da je proizvodnja ROS vpletena v mehanizem nadzora zgibanja in odstranjevanja proteinov (Luca idr., 2015). ROS igrajo vlogo v več procesih, na primer tudi pri signalizaciji in apoptozi. Posledično lahko poškodujejo proteine, lipide, deoksiribonukleinsko kislino (v nadaljevanju: DNK) in sladkorje, kar s seboj prinese neverjetne negativne posledice na delovanje celic (Luca idr., 2015).

Antioksidativni obrambni sistem, sestavljen iz neencimskih in encimskih antioksidantov, na primer glutationa, superoksid dismutaze, katalaze in glutation peroksidaze, varuje celico pred oksidativnimi poškodbami. Če je porušena homeostaza, ta sistem ne zadostuje v borbi proti visokim vsebnostim ROS, in nastopi stanje oksidativnega stresa (Luca idr., 2015). V primerjavi z drugimi telesnimi tkivi vsebujejo možgani nizke količine antioksidativnih sistemov. To lahko možgane izpostavi poškodbam, povezanim s kopičenjem nevrotoksičnih peptidov, kot je A $\beta$  (Dominguez in Barbagallo, 2018).

#### *f) Sestava črevesne mikrobiote*

Sestava črevesne mikrobiote se lahko spreminja glede na starost, etnično pripadnost, način življenja in prehranjevalne navade, te spremembe pa lahko vplivajo na razvoj črevesnih in drugih bolezenskih stanj (Rinninella idr., 2019). Raznolikost črevesne mikrobiote z leti upada, kar je pri bolnikih z AB še pospešeno (Bostanciklioğlu, 2019). Zaradi povezave med staranjem in črevesno mikrobioto se ponuja tudi možnost, da bi lahko tako s ciljnim spreminjanjem njene sestave vplivali na pojavnost s starostjo pogojenega vnetja ter drugih bolezenskih stanj (Sherwin idr., 2017). V negativnem smislu lahko, na primer, spremembe v sestavi črevesne mikrobiote, ki jih sproži prehrana, ki vsebuje visoke količine maščob, vodijo do povečane prepustnosti črevesne stene, izplavljanja lipopolisaharidov (angl. »lipopolysaccharides« – v nadaljevanju: LPS), endotoksemija pa nato še poveča vnetje ter sproži sistemski vnetni odziv in razvoj bolezni (Hu idr., 2016; Marungruang, 2018). Debelost, ki se navadno povezuje s takšnim načinom prehranjevanja, namreč poveča količino patogenih bakterij v črevesju. Slednje nato povzročijo prej omenjeno endotoksemijo, ki, kot rečeno, povzroči vnetje živcev in kognitivni upad (Daulatzai, 2014).

Neravnovesje v sestavi črevesnih bakterij oziroma disbioza lahko vodi do razvoja raznih bolezni, kot so sindrom razdražljivega črevesja, debelost, diabetes, astma, pa tudi do obolenj,

kot so Parkinsonova in Alzheimerjeva bolezen ter depresija (Luca idr., 2019; Jiang idr., 2017; Tremlett, Bauer, Apple-Cresswell, Finlay in Waubant, 2017). Disbioza je povezana tudi z oslabljenim delovanjem črevesne pregrade, kar pa vodi v motnje delovanja imunskega sistema (Marungurang, 2018). Trenutni izziv predstavlja razumevanje sestave črevesne mikrobiote zdravega posameznika in na kakšen način lahko s spreminjanjem te sestave dosežemo uravnoteženo komunikacijo med možgani in črevesjem (Marungruang, 2018).

## 4.2 Črevesna mikrobiota in Alzheimerjeva bolezen

Minilo je nekaj več kot 100 let, odkar je Nobelov nagrajenec Elie Metchnikoff s Pasteurjevega inštituta v Parizu predpostavil, da igrajo mlečnokislinske bakterije pomembno vlogo pri programiranju procesa staranja (Sherwin idr., 2017). Od takrat je bilo narejenih veliko korakov na poti k razumevanju, kako komenzalne bakterije v sodelovanju s prebavnim sistemom vplivajo na zdravje gostitelja (Sherwin idr., 2017). Približno polovica vseh celic ali odstotek vseh genov v človeškem telesu je človeškega izvora, ostali pripadajo mikrobom (Tremlett idr., 2017). Črevesna mikrobiota vpliva na več vidikov gostiteljeve fiziologije, povezanih z dozorevanjem in funkcijo imunskega sistema (Fung, Olson in Hsiao, 2017). Prav tako je njena naloga omejevanje prostora in hranil za patogene mikroorganizme, vzdrževanje neprepustnosti črevesne pregrade, proizvodnjo vitaminov (npr. B12 (Hu idr., 2016)) in absorpcijo hranil (Alkasir idr., 2017) ter pridobivanje energije iz neabsorbirane hrane prek proizvodnje kratkoveržnih maščobnih kislin (v nadaljevanju: KVMK) (Jiang idr., 2017). Mikrobni metaboliti prek medsebojnih interakcij in interakcij z gostiteljem vplivajo na gostiteljevo zdravstveno stanje na več različnih načinov (Marungruang, 2018).

Število mikrobov niha po dolžini prebavnega trakta in je največje v debelem črevesju, kjer poteka proces fermentacije hranilnih komponent, kot so prehranske vlaknine. Čeprav se natančnejša opredelitev zastopanosti glavnih bakterijskih debel nekoliko razlikuje med avtorji, pa so si enaki v tem, da so najpogosteje zastopani predstavniki treh debel bakterij: *Bacteroidetes*, *Firmicutes* in *Actinobacteria* (Chakraborti, 2015). Deblo *Bacteroidetes* predstavlja približno 48 odstotkov celotne bakterijske populacije, *Firmicutes* približno 51 odstotkov, *Actinobacteria* pa skupaj s *Proteobacteria* približno odstotek (Giau idr., 2018). Te so najbolj zastopane in igrajo pomembno vlogo pri razvoju metabolnih bolezni, še posebej pri debelosti. Druga debela so prav tako prisotna, vendar v manjši meri (Chakraborti, 2015). *Faecalibacterium prausnitzii* je najštevilčnejša bakterija v črevesju zdravega človeka. Predstavlja več kot 5 odstotkov skupne bakterijske populacije. Vrsta *F. prausnitzii* je predstavnik debela *Firmicutes*, vrste *Clostridium* in družine *Ruminococcaceae* (Chakraborti, 2015).

V nadaljevanju bomo po vrsti opisali pglavitne dejavnike črevesne mikrobiote, ki jih povezujejo z Alzheimerjevo boleznijo. Mednje sodijo predvsem mikrobni metaboliti, in sicer mikrobni amiloidi, lipopolisaharidi, KVMK ter prenašalci živčnih impulzov.

#### 4.2.1 Mikrobnii amiloidi

Specifična vloga črevesne mikrobiote pri uravnavanju nevro-imunskih funkcij sega prek prebavnega trakta in ima lahko precejšen vpliv na proces nevrodegeneracije, posebej te, povezane z AB (Giau idr., 2018). Tako je črevesna mikrobiota tudi vir amiloidov (Kowalski in Mulak, 2019), saj bakterije in glive kot sestavni del črevesne mikrobiote izločajo amiloidne proteine v CZS, kar privede do kopičenja A $\beta$  in povečanja tveganja za nastanek AB (Giau idr., 2018). Proizvodnja amiloidnih proteinov pa hkrati pripomore k temu, da se bakterijske celice med seboj povežejo, tako da tvorijo biofilm in postanejo s tem odporne na fizično uničenje ali uničenje s strani imunskega sistema (Kowalski in Mulak, 2019). Jiang idr. (2017) navajajo, da nekateri bakterijski sevi, kot so *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enterica*, *Mycobacterium tuberculosis* in *Staphylococcus aureus*, lahko proizvajajo funkcionalne amiloide, kar lahko dodatno pripomore k razvoju AB. Isti avtorji nato nadaljujejo s predpostavko, da lahko amiloidi nato uhajajo zunaj meja prebavnega trakta in da so vzrok za napačno zlaganje nevrlnih proteinov (Jiang idr., 2017).

#### 4.2.2 Lipopolisaharidi

V zdravi črevesni mikrobioti je med 50 do 70 odstotkov gram negativnih bakterij (Hu idr., 2016). Lipopolisaharidi (LPS) so ena od poglavitnih sestavin zunanje membrane gram negativnih bakterij (Jiang idr., 2017) ter so sestavljeni iz lipidnega in sladkornega dela (Hu idr., 2016). V nizkih koncentracijah so prisotni tudi v krvi zdravih ljudi (Daulatzai, 2014; Chakraborti, 2015). LPS ali endotoksini lahko, če v večjih količinah vstopajo v krvni obtok, sprožijo resen vnetni odziv. Isti avtorji trdijo, da ob normalnem delovanju črevesnega epiteliija njihov prehod v krvni obtok onemogočajo tako imenovani tesni stiki; kadar so ti stiki poškodovani in postane črevesna pregrada prepustna, se LPS izplavijo v krvni obtok, kjer povzročijo vnetje (Hu idr., 2016). Sproščanje LPS in izločanje amiloidov iz zunanjih membran mikrobnih celic se med drugim povezuje tudi z napredovanjem nevrodegeneracije (Leblhuber, Steiner, Schuetz, Fuchs in Gostner, 2018). Plazemske koncentracije LPS so namreč pri bolnikih z AB kar trikrat povišane, njihova koncentracija pa negativno korelira s številom črevesne bakterijske vrste *Bifidobacterium*, za katero je znano, da vzdržuje neprepustnost črevesne pregrade in tako preprečuje translokacijo bakterijskih endotoksinov zunaj črevesja (Jiang idr., 2017).

Prehrana, ki vsebuje visoke količine maščob, spremeni sestavo črevesne mikrobiote v prid gram negativnih bakterij, kar posledično privede do povišane proizvodnje LPS in večje prepustnosti črevesne pregrade (Chakraborti, 2015), tako se plazemske koncentracije LPS povečajo tudi dva- do trikrat (Jiang idr., 2017). Ta pojav imenujemo metabolna endotoksemija; lahko vodi v nizkostopenjsko vnetje, inzulinsko rezistenco in razvoj diabetesa tipa 2 (Jiang idr., 2017). Čeprav LPS delujejo vnetno, pa delujejo drugi metaboliti črevesne mikrobiote imunoregulatorno in lahko to vnetje omilijo. Eden takšnih metabolitov so kratkoverižne maščobne kisline (Chakraborti, 2015).

### 4.2.3 Kratkoverižne maščobne kisline

KVMK so maščobne kisline z 2 do 6 ogljikovimi atomi, nastanejo z bakterijsko fermentacijo prehranskih vlaknin (Valdes, Walter, Segal in Spector, 2018). Medtem ko večino KVMK v portalnem krvnem obtoku proizvedejo jetra, pa tiste, ki so proizvedene v distalnem delu debelega črevesa, zaobidejo portalni krvni obtok in potujejo neposredno do možganov (Noble idr., 2017). KVMK so primarni vir hrane za kolonocite (Marungruang, 2018) in sodelujejo pri prenašanju živčnih signalov – urejajo sintezo živčnih prenašalcev, ki sodelujejo pri vedenju in kogniciji (Luca idr., 2019). Približno 95 odstotkov vseh KVMK, proizvedenih v debelem črevesu, porabijo kolonociti, le 5 odstotkov se izloči z blatom. KVMK, ki jih proizvede črevesna mikrobiota, lahko najdemo v hepatici, portalni in periferni krvi, kar pa vpliva na metabolizem lipidov, glukoze in holesterola v več tkivih po telesu (Marungruang, 2018).

Predstavniki črevesne mikrobiote (rodovi *Archaea*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio*, *Clostridium*, *Collinsella*, *Coprococcus*, *Propionibacterium*, *Roseburia* idr. (Oleskin in Shenderov, 2016)) imajo sposobnost fermentacije prehranskih komponent, predvsem neprebavljivih ogljikovih hidratov, ki jih prebavni encimi sicer ne zmorejo prebaviti (Marungruang, 2018). Takšni ogljikovi hidrati so, na primer, prehranske vlaknine, ki so pomembne za ohranjanje neprepustnosti črevesne in krvno-možganske pregrade (Leblhuber idr., 2018). Produkt te fermentacije so KVMK, predvsem acetat, propionat in butirat, plini, kot so CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> in metan, ter vitamini (na primer K in B12) (Marungruang, 2018). Butirat je večinoma produkt bakterij debla *Firmicutes*, je vir energije za kolonocite (Chakraborti, 2015) in igra pomembno vlogo pri ohranjanju črevesne sluznice, s tem ko ureja diferenciacijo in apoptozo kolonocitov ter spodbuja izločevanje nedelujočih celic. Ne nazadnje ima tudi pomembno vlogo pri uravnavanju komunikacije med mikrobi in imunskim odzivom (Marungruang, 2018). Propionat proizvajajo predvsem bakterije iz debla *Bacteroidetes* (Chakraborti, 2015). Ta se prenese do jeter, kjer ureja glukoneogenezo in skupaj s črevesnimi maščobnokislinskimi receptorji sporoča o sitosti (Valdes idr., 2018). Acetat prav tako večinoma proizvajajo bakterije iz debla *Bacteroidetes* (Chakraborti, 2015). Je najbolj zastopana KVMK in hkrati ključni metabolit za rast drugih bakterij. Prispe do perifernega tkiva, kjer se ga porabi v metabolizmu holesterola in za lipogenezo. Zanj se tudi predvideva, da igra ključno vlogo pri urejanju apetita (Valdes idr., 2018).

### 4.2.4 Prenašalci živčnih impulzov

Produkt črevesne mikrobiote so lahko tudi aminokisline (na primer gama-aminomaslena kislina, v nadaljevanju: GABA, in triptofan) ter monoamini (na primer serotonin, histamin in dopamin). Oboji igrajo pomembno vlogo v možganih kot prenašalci in/ali kot prekurzorji prenašalcev živčnih impulzov (Giau idr., 2018), s čimer vplivajo tudi na nevropsihiatrično stanje posameznika, še posebej starejših (Leblhuber idr., 2018). Ti nevroaktivni produkti lahko vplivajo na nevrone v enteričnem živčnem pletežu ali pa prek krvnega obtoka vstopajo in delujejo v CŽS (Giau idr., 2018). Giau idr. (2018) trdijo, da se signalne molekule, ki jih izloča črevesna mikrobiota prek limfnega sistema in krvnega obtoka, prenesejo po celotnem CŽS, kjer lahko vplivajo tako na delovanje in plastičnost možganov kot tudi na kognitivne

funkcije. To nakazuje na pomembno vlogo mikrobiote pri razvoju in delovanju CŽS, ne nazadnje tudi na njeno vlogo pri razvoju kroničnih možganskih obolenj.

#### a) GABA

GABA je poglavitni prenašalec inhibitornih živčnih impulzov v CŽS (Akbari idr., 2016; Hu idr., 2016; Jiang idr., 2017), ki ga proizvajajo bakterije vrste *Lactobacillus brevis* in *Bifidobacterium dentium* prek metabolizma glutamata (Hill idr., 2014; Hu idr., 2016; Jiang idr., 2017). Spremembe v delovanju GABA receptorskega sistema lahko pospešijo kognitivni upad. Zvišanje količine GABA v prebavnem traktu je neposredno povezano z zvišanjem njegove vsebnosti v CŽS. Spremembe v sestavi črevesne mikrobiote, natančneje zmanjšanje populacij *Lactobacillus* in *Bifidobacterium*, bodo tako vplivale na proizvodnjo GABA v črevesju, kar posledično vodi v nižje količine GABA v CŽS (Hu idr., 2016). Post mortem preiskave območij možganske skorje bolnikov z AB so namreč pokazale, da so koncentracije GABA v frontalnem, temporalnem in parietalnem delu korteksa znižane (Jiang idr., 2017). Akbari idr. (2016) tako navajajo, da se motnje v signaliziranju GABA povezujejo s tesnobo in depresijo, povzročajo napake v sinaptogenezi ter kognitivne motnje. Podobno trdijo tudi Hill idr. (2014), ki naboru motenj dodajo še epilepsijo, kognitivni upad in Alzheimerjevo bolezen.

#### b) Serotonin

Serotonin oziroma 5-hidroksitriptamin je zelo pomemben pri ohranjanju kognitivnih funkcij (Hu idr., 2016). Med razvojem CŽS igra serotonin ključno vlogo pri regulaciji diferenciacije nevronov in njihovi migraciji, pa tudi pri rasti aksonov, mielinizaciji ter oblikovanju sinaps (Israelyan in Gross-Margolis, 2019). Več kot 95 odstotkov se ga proizvede v črevesju, zato pri tem igra črevesna mikrobiota pomembno vlogo (Hu idr., 2016).

#### c) Glutamat

Glutamat je poglavitni in najštevilčnejši ekscitatorni prenašalec živčnih impulzov v CŽS (Hill idr., 2017; Hu idr., 2016). Receptor N-metil-D-aspartat-glutamata (v nadaljevanju: NMDA) igra več pomembnih vlog pri razvoju živčevja, saj sodeluje pri urejanju preživetja nevronov, razvoju dendritov in aksonov ter pri plastičnosti sinaps. Prav tako ima pomembno vlogo pri vzpostavitvi živčnih poti ter je ključen v procesu učenja in pomnjenja (Hu idr., 2016). Avtorji prav tako navajajo, da lahko motnje v sestavi črevesne mikrobiote, nastale zaradi rabe antibiotikov, znatno zmanjšajo število NMDA receptorjev v hipokampusu. Iz tega lahko sklepamo, da obstaja povezava med sestavo črevesne mikrobiote in količino izraženih NMDA receptorjev.

### 4.3 Povezava med črevesno mikrobioto, imunskim sistemom in možgani

Os mikrobiota-črevesje-možgani je dvosmerni komunikacijski sistem, ki vključuje živčne, imunske, endokrine in metabolne poti (Jiang idr., 2017; Kowalski in Mulak, 2019). Sherwin idr. (2017) navajajo, da ima povezava velik vpliv na ključne možganske procese, kot so vnetje

živcev, aktivacija stresnega odziva, prenos nevronov in nevrogeneza. Motena povezava osi tako najverjetneje vpliva tudi na razvoj neurodegenerativnih bolezni (Kowalski in Mulak, 2019; Tremlett idr., 2017).

Možgani lahko vplivajo na delovanje črevesja na več načinov, na primer na peristaltiko prebavne cevi, izločanje kisline, proizvodnjo mucinov in bikarbonatov, prepustnost črevesja ter imunski odziv (Marungruang, 2018). V obratni smeri pa prav tako obstaja več mehanizmov, preko katerih lahko črevesne bakterije pošiljajo signale do možganov, na primer prek vagusnega živca (Sherwin idr., 2017). Ena od poti, ki povezujejo črevesno mikrobioto in možgane, je aktivacija imunskega sistema. Limfno tkivo v črevesju vsebuje med 70 in 80 odstotkov vseh imunskih celic, zato velja za največji in najpomembnejši imunski organ v človeškem telesu (Du idr., 2018). Črevesna mikrobiota vpliva na razvoj s črevesjem povezanega limfnega tkiva (Alkasir idr., 2017) in sintezo signalnih molekul, kot so citokini. Slednji so družina več kot stotih manjših beljakovinskih molekul (Fung idr., 2017), ki po vstopu v krvni obtok prehajajo krvno-možgansko pregrado (v nadaljevanju: KMP) in neposredno vplivajo na delovanje možganov (Du idr., 2018; Powell idr., 2017). Imunske celice možgane varujejo pred okužbami in poškodbami (Fung idr., 2017). Poglavitne imunske celice CŽS so mikroglialne celice, ki se nahajajo po celotnem območju možganov in hrbtenjače, zlasti prisotne pa so v možganski sivini (Powell idr., 2017). Powell idr. (2018) navajajo, da ima mikroglia ključno vlogo pri vnetju živcev ter je tako vključena v razvoj bolezni možganov, kot sta multipla skleroza in AB. Fung idr. (2017) pa dodatno opredelijo njeno vlogo. Po njihovem mnenju mikroglia opravlja naslednje naloge: fagocitozo, predstavitev antigenov, proizvodnjo citokinov in aktivacijo imunskega odziva. Mikroglia skupaj z drugimi celicami prav tako pripomore k odstranitvi zunajceličnih amiloidnih plakov. Na podlagi tega sklepajo, da je moteno ravnovesje med kopičenjem in odstranjevanjem A $\beta$  s strani mikroglije eden od ključnih patoloških dogodkov pri razvoju AB (Powell idr., 2017).

V povezavi z mikrobioto pa Fung idr. (2017) dodajo, da ta vpliva na delovanje in dozorevanje mikroglije, posledično tudi na imunost, vnetni odziv in nevromodulatorne mehanizme. Iz tega sledi, da je zdrava sestava mikrobiote lahko izjemno koristna pri sistemskem imunskem obrambnem sistemu in ohranjanju možganske funkcije (Leblhuber idr., 2018). V zvezi z načinom prehranjevanja in v navezavi na predhodno omenjene dejavnike tveganja za nastanek AB velja omeniti, da maščobe, posebej nasičene maščobne kisline, vplivajo na povečano proizvodnjo citokinov, s čimer sprožijo vnetne procese v mikrogliji (Dominguez in Barbagallo, 2018).

#### **4.3.1 Vnetje in Alzheimerjeva bolezen**

Vnetje je odgovor telesa na okužbe in poškodbe tkiv, odziv pa nadzirajo celice imunskega sistema (Alkasir idr., 2017). Kot smo že nakazali v prejšnjem razdelku, so v vnetju živcev vključene mikroglia, astrociti – sistem komplementa in citokini. Natančneje povedano, citokini igrajo ključno vlogo pri vnetju živcev. Več študij je že pokazalo, da so vsebnosti vnetnih citokinov, kot sta interleukin-1-beta (v nadaljevanju: IL-1 $\beta$ ) in tumor nekrotizirajoči faktor (angl. »tumor necrosis factor« – v nadaljevanju: TNF) povišana pri bolnikih z AB. Tudi

mikroglia je vključena v izločanje vnetnih citokinov: interlevkin-1 (v nadaljevanju: IL-1), interlevkin-6 (v nadaljevanju: IL-6), tumor nekrotizirajoči faktor-alfa (angl. »tumor necrosis factor-alpha – v nadaljevanju: TNF-alfa) in transformirajoči rastni faktor-beta (angl. »transforming growth factor-beta« – v nadaljevanju: TGF- $\beta$ ); kar vse skupaj pripomore k razvoju nevroloških motenj (Giau idr., 2018). McGrattan idr. (2019) navajajo, da lahko namreč proizvodnja teh molekul sproži in vzdržuje cikel nevroinflamatornih procesov, vključno z amiloidozo, smrtjo nevronov, tanjšanjem možganske skorje, zmanjšanjem volumna možganov, ne nazadnje tudi spodbudi manjše možganske krvavitve in nevrodegeneracijo.

Vnetje živcev se kaže kot aktivacija mikroglije, reaktivnih astrocitov in sistema komplementa na območju kopičenja amiloidnih plakov, ki so znan pokazatelj AB (Kowalski in Mulak, 2019). Dominguez in Barbagallo (2018) dodatno opišeta potek dogodkov in ugotavljata, da je vnetje živcev sicer v svoji osnovi oblika varovalnega mehanizma, vendar kadar vnetje uide izpod nadzora in preide v kronično stanje, je lahko škodljivo. Dodata še, da kopičenje beta amiloida sproži vnetje živcev, kar še dodatno povzroči proizvodnjo beta amiloida in poslabša vnetje (Dominguez in Barbagallo, 2018). To poteka tako, da celice mikroglije potujejo na poškodovana območja možganov, vendar ko prispejo tja, sprostijo še večje količine AB. To še dodatno prispeva k oblikovanju amiloidnih plakov, ki nase potegnejo še večje količine glijalnih celic in tako naprej (Alkasir idr., 2017). Iz tega sledi, da je regulacija imunskega odziva eden od ključnih procesov, vključenih v razvoj nevrodegenerativnih bolezni (Giau idr., 2018). Aktivirani astrociti, kot eden od možnih igralcev pri vnetju, so pomožne celice, ki zagotavljajo trofično in metabolno vzdrževanje nevronov (Giau idr., 2018). Astrociti so tudi številčnejši od mikroglije in imajo dolgotrajnejši vpliv na vnetje živcev. Tudi ti izločajo vnetne citokine in kemokine, s tem namenom, da predelajo in odstranijo nakopičen AB. Dodatno kopičenje AB tudi tukaj povzroči pozitivno povratno zanko, ki dodatno aktivira še več astrocitov, ki nato izločijo še več vnetnih citokinov (Giau idr., 2018).

Tudi klinične raziskave nakazujejo na povezavo med prisotnostjo vnetnih faktorjev v krvnem obtoku in pojavom kognitivnega upada (Noble idr., 2017). Približno 9 odstotkov celotne spremenljivosti sestave črevesne mikrobiote je bilo tako v eni raziskavi povezane s prisotnostjo vnetnih citokinov IL-6 in interlevkina-8 (v nadaljevanju: IL-8). Vsi rodovi bakterij, ki so bili vsaj deloma povezani s katerim od omenjenih citokinov, so pripadali deblu *Proteobacteria*. Iz tega sledi, da je popolnoma verjetno, da predstavlja stanje nizkostonjskega vnetja skupni imenovalec pri nastanku tako nevrodegenerativnih kot kardiovaskularnih bolezni. Ena od hipotez pravi, da bi to lahko potekalo prek uničujočih učinkov na žilje, kar bi posledično vodilo v oslABLJENO delovanje krvno-možganske pregrade in bi nato spodbudilo vnetje v možganih (Alkasir idr., 2017). Cattaneo idr. (2017) pa so v ločeni raziskavi ugotovili, da sta bakterijska rodova *Escherichia* in *Shigella*, ki ju povezujejo s posredovanjem vnetnega odziva, povišana v vzorcih blata bolnikov z AB. Takšni rezultati nakazujejo na vzročno-posledično povezavo med moteno sestavo črevesne mikrobiote in sistemskim vnetjem, ki pa lahko sproži ali poslabša nevrodegeneracijo, ki smo ji priča pri bolnikih z AB (Sherwin idr., 2017).

### **4.3.2 Higienska hipoteza**

Higienska hipoteza govori o tem, da je izpostavljenost mikroorganizmom ključna za razvoj imunskega sistema. Tudi študije dokazujejo, da so motnje v delovanju imunskega sistema povezane z nezadostno izpostavljenostjo mikroorganizmom. Določeni vidiki sodobnega življenja, kot so pretirana uporaba antibiotikov, uporaba prehranskih dodatkov ali konzervansov, čista pitna voda ter izboljšane sanitarne storitve, vplivajo na nižjo stopnjo izpostavljenosti mikroorganizmom, med te pa spadajo tudi nekateri neškodljivi mikrobi in paraziti (Hu idr., 2016). Tako je izpostavljenost mikrobom in parazitom v zgodnjem obdobju življenja povezana s povečano zmožnostjo zaščite proti raznim alergijskim in avtoimunim obolenjem (Magarian-Blander idr., 2017). Ti isti avtorji dodajo še, da lahko prav to vpliva na dovzetnost za nastanek na z imunostjo povezane bolezni pozneje v življenju (Magarian-Blander idr., 2017).

V povezavi z AB higienska hipoteza predpostavlja, da je tudi pojav AB povezan z manjšo izpostavljenostjo manjšemu številu mikroorganizmov oziroma z izboljšanimi okoljskimi sanitarnimi standardi. Nepravilno delovanje imunskega sistema, ki je nastalo zaradi nezadostne stimulacije imunskega sistema, lahko deluje kot dejavnik tveganja za AB. Avtorji pa na to temo zaključijo, da je pomanjkanje izpostavljenosti mikroorganizmom čez ves življenjski cikel povezano z nastankom AB (Hu idr., 2016).

### **4.4 Neravnovesje v sestavi črevesne mikrobiote v povezavi z nevrodegenerativnimi boleznimi**

Marungruang (2018) navaja, da lahko nastanek nevrodegenerativnih bolezni, med katere spada tudi AB, izvira iz neravnovesja v sestavi črevesne mikrobiote, saj to spodbudi nastanek systemskega vnetja. Pri starejših lahko takšno neravnovesje povzroči sindrom prepuščajočega črevesja, kar lahko povzroči tiho systemsko vnetje in tako še dodatno spodbudi vnetje živcev (Leblhuber idr., 2018). To vnetje namreč ni omejeno le na črevesje, zato lahko vnetni citokini prehajajo skozi črevesno pregrado, vstopajo v krvni obtok in dosežejo možgane (Luca idr., 2019).

Krvno-možgansko pregrado, ki jo tvorijo endotelijske celice, periciti in glia celice (Kowalski in Mulak, 2019; Noble idr., 2017), ločuje CŽS od molekul, patogenov ter drugih celic, ki prispejo po krvi (Kowalski in Mulak, 2019). Deluje kot vratar, ki dopušča vstop raznim hranilom in drugim sestavinam, ki so potrebne za nemoteno delovanje možganov, medtem ko preprečuje vstop morebitno škodljivim toksinom, ki prispejo po krvi (Noble idr., 2017). Ker pa presnovni produkti in ostanki črevesne mikrobiote lahko prečkajo KMP in s tem dosežejo CŽS ter stopijo v stik z mikroglijo, se predvideva, da lahko na ta način mikrobiota vpliva na pojav vedenjskih in fizioloških nepravilnosti, povezanih z nevrološki motnjami (Hu idr., 2016).

Črevesne bakterije in toksini lahko oslabijo delovanje KMP, ne nazadnje prispevajo tudi k nastanku zgodnjih nevroinflamatornih sprememb in pojavu AB, tako da sprožijo odgovor mikroglije in onemogočijo odstranjevanje amiloida (McGrattan idr., 2019). Jiang idr. (2017)



navajajo, da lahko povečana prepustnost črevesne pregrade in KMP, povzročena s strani neravnovesja v sestavi črevesne mikrobiote, vpliva na nastanek AB ter drugih nevrodegenerativnih bolezni, posebej tistih, ki so povezane s staranjem. Spremembe v sestavi črevesne mikrobiote lahko torej vplivajo na delovanje perifernega in CŽS, kar privede do spremembe v delovanju možganov in še dodatno podkrepi teorijo o obstoju osi mikrobiota-črevesje-možgani. Predhodne študije, opravljene na ljudeh, kažejo, da lahko načrtno spreminjanje mikrobiote z vnašanjem koristnih bakterij ali pa probiotikov vodi do spremembe v delovanju možganov (Giau idr., 2018).

#### **4.4.1 Sindrom prepuščajočega črevesja**

Od požiralnika do anusa je prebavni trakt obdan z enojno plastjo epitelnih celic, ki so dodatno ojačane in povezane s proteini tesnih stikov. Delujejo kot pregrada in tako ščitijo telo pred vdorom patogenih organizmov in drugih škodljivih snovi, kar je pomembno tudi pri uravnavanju aktivacije imunskega sistema (Hu idr., 2016; Magarian-Blander idr., 2017; Noble idr., 2017). Motnje v delovanju črevesne pregrade lahko privedejo do sindroma prepuščajočega črevesja, ki ga spremljajo povišani vnetni kazalniki, kar posledično vodi do pojava bolezni. S sindromom prepuščajočega črevesja so neposredno povezane tudi motnje v sestavi črevesne mikrobiote, ki so lahko posledica stresa, okužbe in vnosa antibiotikov (Hu idr., 2016). Na prepustnost črevesja vpliva tudi staranje prebavnega trakta; tako lahko s starostjo pride do vdora potencialno patogenih bakterij in njihovih produktov v krvni obtok, kjer sprožijo sistemsko vnetje pa tudi vnetje živcev (Sherwin idr., 2018). Kot navajajo Chen idr. (2017), je sindrom prepuščajočega črevesja zdaj že splošno sprejet dejavnik pri razvoju, poteku in zdravljenju nevropsihiatričnih motenj. V povezavi s tem lahko te spremembe v črevesnem okolju sčasoma uničijo zmožnost možganov, da se branijo pred strupenimi snovmi. Vnetje, ki ga povzroči sindrom prepuščajočega črevesja, pa sčasoma vodi do prepustnih možganov. To se zgodi, ko se poveča prepustnost krvno-možganske pregrade (Hu idr., 2016).

#### **4.5 Alzheimerjeva bolezen in možne prehranske intervencije**

Uravnavanje spremenljivih dejavnikov tveganja se kaže kot najbolj obetavna strategija v boju proti AB. Navezujoč na to, vedno več dokazov kaže v smeri prehranskih intervencij in njihovega morebitnega zaščitnega učinka proti s starostjo pogojenim kognitivnim upadom (Dominguez in Barbagallo, 2018; McGrattan idr., 2019). Številne raziskave so tudi preiskovale vlogo vzorcev prehranjevanja na kognicijo v poznem obdobju življenja. Kot kaže, ima kombinacija raznih živil sinergistični in močnejši učinek na zdravje kot pa posamezne sestavine (Dominguez in Barbagallo, 2018; McGrattan idr., 2019). Približno 60 odstotkov sprememb črevesne mikrobiote lahko pripišemo prehrani, zato je lahko spreminjanje sestave prek prehranskih intervencij učinkovit način, kako zmanjšati vnetje, povezano z AB (McGrattan idr., 2019). Zdrava črevesna mikrobiota lahko tudi poveča biološko aktivnost in izkoristek antioksidantov. Tako iz njih izvabi karseda največji zaščitni učinek in zmanjša tveganje za nastanek AB (Hu idr., 2016). Kot smo že nakazali v prejšnjem poglavju, zmeraj več študij potrjuje, da periferno vnetje in spremembe v sestavi črevesne mikrobiote lahko

vplivajo na vnetje živcev, obenem pa pospešijo nevrodegeneracijo. Na te zunanje dejavnike vplivamo tudi s prehrano (McGrattan idr., 2019).

Zdrav način prehranjevanja, za katerega je značilen visok vnos živil rastlinskega izvora, probiotikov, antioksidantov, soje, oreščkov in večkrat nenasičenih maščobnih kislin ter nizek vnos nasičenih maščob, beljakovin živalskega izvora in sladkorja, zmanjša vnetni odziv, zniža inzulinsko rezistenco, obenem pa tudi zmanjša tveganje za pojav kognitivnega upada in nastanek AB (Kowalski in Mulak, 2019). V tem oziru sta veliko zanimanja kot obliki preprečevanja pojava demence vzbudila mediteranski način prehranjevanja (angl. »Mediterranean diet« – v nadaljevanju: MeDi) in prehranski pristop k preprečevanju hipertenzije (angl. »dietary approach to stop hypertension« – v nadaljevanju: DASH dieta), to pa predvsem zaradi njunih dokazanih protivnetnih in varovalnih učinkov (McGrattan idr., 2019). Oba načina prehranjevanja sta povezana z upočasnjem kognitivnim upadom in zmanjšanim tveganjem za nastanek AB, čeprav si rezultati vendarle niso zmeraj enaki (McGrattan idr., 2019).

#### **4.5.1 Vpliv probiotikov, prebiotikov, simbiotikov in antibiotikov na Alzheimerjevo bolezen**

##### *a) Probiotiki*

Probiotiki so živi organizmi, ki imajo, kadar jih zaužijemo v zadostnih količinah, koristen učinek na zdravje gostitelja (Food and Agriculture Organization / World Health Organization, 2002). Zaradi njihove pogostosti, ne nazadnje so tudi stalni prebivalci črevesne mikrobiote, so najpogosteje preučevani rodovi *Lactobacillus* in *Bifidobacteria* (Alkasir idr., 2017; Jiang idr., 2017) ter *Streptococcus* (Alkasir idr., 2017). Najpogosteje uporabljene so mlečnokislinske bakterije, ki so heterogena skupina bakterij. Tem je skupno, da so gram pozitivne palčke in gram pozitivni koki, katalaza-negativne, nesporogene, fermentativne, fakultativno anaerobne in da tvorijo mlečno kislino kot glavni produkt fermentacije glukoze (Jeršek, 2013). Probiotični mikroorganizmi in njihovi metaboliti delujejo protitumorsko in protivnetno. Imajo sposobnost odstranjevanja patogenih mikroorganizmov (Jin idr., 2018), vzdržujejo pa tudi neprepustnost črevesnega epitelija. Varujejo pred motnjami v delovanju črevesne pregrade, preprečujejo vnetje živcev in nevrodegeneracijo (Kowalski in Mulak, 2019) ter upočasnijo hitrost kognitivnega upada (Harding idr., 2017). Določeni sevi mlečnokislinskih bakterij so sposobni sinteze kobalamina, vitamina B12, katerega pomanjkanje neposredno povezujejo z nastankom AB (Alkasir idr., 2017). Redno uživanje probiotikov rodu *Lactobacillus* v zadostni količini lahko tako pripomore k izboljšanju težav s spominom (Chen idr., 2017).

Probiotiki lahko zmanjšajo možnosti za pojav AB tudi tako, da prek glutamata spodbujajo nastanek GABA (Harding idr., 2017), kot kaže, pa imajo tudi vlogo pri uravnavanju glikemične krvne slike pri AB (Nik Azm idr., 2017). Pistolatto idr. (2016) so, na primer, zapisali, da je nedavna naključna dvojno slepa kontrolirana študija pokazala, da ima uživanje mešanih probiotikov za 12 tednov pozitiven vpliv na kognitivno funkcijo pri bolnikih z AB. Probiotiki vplivajo tudi na znižanje koncentracije vnetnih citokinov, kot so IL-1 $\beta$ , interlevkin-

5 (v nadaljevanju: IL-5), IL-6, IL-8 in TNF-alfa, ki so pri starejših povišane, prav tako pa povišajo koncentracije limfocitov in naravnih celic ubijalk ter povečajo sposobnost fagocitoze. Vsi ti dejavniki kažejo na izboljšanje imunskega odgovora skupaj z zmanjšanjem stopnje vnetja (Harding idr., 2017). Terapija s probiotiki pa ima tudi svoje omejitve, saj je vzpostavitev stabilne črevesne mikrobiote zelo zahtevno (Giau idr., 2018). Poleg tega Agahi idr. (2018) ugotavljajo, da se mora pri morebitni terapiji s probiotiki upoštevati tudi stopnjo napredovanja bolezni, saj dodajanje probiotikov k prehrani pri bolnikih z napredno obliko AB ni imelo vidnejšega učinka. Leblhuber idr. (2018) na to temo sklenejo, da je še vedno premalo raziskav, ki bi potrjevale morebitni koristni učinek probiotičnih dodatkov k prehrani kot obliko terapije pri zdravljenju AB.

#### b) *Prebiotiki*

Prebiotiki so kemijske spojine, največkrat oligosaharidi, ki delujejo kot substrati za probiotične bakterije in s tem spodbujajo njihovo rast. Prebiotiki so za neprobiotične bakterije neprebavljivi in nepresnovljivi, vendar izredno stimulatívni za razvoj bakterijskih vrst *Bifidobacteria* in *Lactobacilli* (Alkasir idr., 2017). Otrobi so dober primer prebiotika, ki spodbuja rast teh bakterijskih vrst (Daulatzai, 2014), prav tako tudi fruktooligosaharidi (Chen idr., 2017). Prehranske vlaknine naj bi ponujale najučinkovitejši način optimizacije in vzdrževanja uravnotežene črevesne mikrobne skupnosti (Marungruang, 2018). Sama definicija prehranskih vlaknin je še zmeraj predmet razprave, vendar, sodeč po Codexu Alimentarius, so prehranske vlaknine polimeri ogljikovih hidratov s tremi ali več monomernimi enotami, ki jih tanko črevo ne prebavi in ne absorbira (Graf, Di Cagno, Fåk, Flint, Nyman, Saarela in Watzl, 2015). Kot nadaljuje Marungruang (2018), v debelem črevesu služijo bakterijam črevesne mikrobiote kot substrat za fermentacijo. Avtorica trdi, da je veliko učinkov prehranskih vlaknin na zdravje povezanih prav z njihovo fermentacijo s strani črevesne mikrobiote, saj ta vodi do nastanka KVMK (Marungruang, 2018).

Prehranske vlaknine lahko na podlagi njihove vodotopnosti razdelimo v dve podkategoriji, na topne in netopne. Topne prehranske vlaknine povezujemo s sposobnostjo nižanja krvnega sladkorja, nižanjem holesterola in povečane absorpcije glukoze v črevesju. Netopne vlaknine pa zmanjšajo čas, potreben za prehod hrane skozi prebavila, vežejo nase strupene vnetne spojine, ki jih nato prenesejo zunaj telesa; na ta način preprečujejo zaprtje in morda celo raka debelega črevesa (Marungruang, 2018). Pomanjkanje vnosa prehranskih vlaknin, vodi v razmnoževanje bakterij, ki razgrajujejo črevesno sluznico, kar posledično vodi do erozije sluznice debelega črevesa in okvare črevesne pregrade (Magarian-Blander idr., 2017). Nenadna povečanja vnosa prehranskih vlaknin lahko začasno zmanjšajo raznovrstnost črevesne mikrobiote, saj prevladajo vrste, ki so sposobne izkoriščati prehranske vlaknine (Valdes idr., 2018).

Kadar pripravek vsebuje prebiotik in probiotik ga imenujemo simbiotik (Alkasir idr., 2017). Primer simbiotika je kombinacija *Bifidobacteria* s fruktooligosaharidi ali pa *Lactobacillus rhamnosus GG* z inulinom. Ti zmanjšajo prepustnost črevesne pregrade in s tem imunski odgovor, posledično tudi sistemsko vnetje (Daulatzai, 2014).

### c) *Antibiotiki*

Uživanje antibiotikov širokega spektra je eden od najpogosteje uporabljenih načinov, kako umetno povzročiti disbiozo črevesja, kar se kaže v zmanjšani količini in raznovrstnosti sestave črevesne mikrobiote (Jiang idr., 2017). Prav tako je za dlje časa odložena ponovna naselitev črevesja z bakterijami (Giau idr., 2018). Študije, opravljene na odraslih, kažejo, da se večina fekalne mikrobiote znova vzpostavi v roku enega meseca po zaključku antibiotičnega zdravljenja, nekatere skupine bakterij pa si ne opomorejo tudi po več letih (12 do 14), kar ima lahko dolgotrajne posledice za zdravje (Graf idr., 2015). V Sloveniji podatki za leto 2017 kažejo, da se število letno predpisanih receptov za antibiotike po 65. letu starosti eksponentno viša in doseže najvišjo točko v skupini nad 85 let, ko je število letno predpisanih receptov primerljivo s številom predpisanih antibiotikov skupini od 1 do 4 let (Čižman, Bajec in Korošec, 2018)

#### **4.5.2 Mediteranska dieta**

Zanimanje za mediteranski način prehranjevanja se je razmahnilo, potem ko je več epidemioloških študij ugotovilo povezavo med prehrano in zmanjšanim tveganjem za razvoj kardiovaskularnih bolezni in smrtnostjo (Peña-Altamira idr., 2017). MeDi velja za enega od najbolj zdravih načinov prehranjevanja (Hu idr., 2016). Epidemiološke raziskave so pokazale, da je AB in blago kognitivno motnjo pogosteje najti pri posameznikih, ki se manj dosledno držijo mediteranske diete (Hu idr., 2016). Prehranjevanje v skladu z MeDi pa je povezano z zmanjšanjem kognitivnega upada in zmanjšano pojavnostjo AB (Dominguez in Barbagallo, 2018; McGrattan idr., 2019).

Značilnosti mediteranskega vzorca prehranjevanja (Dominguez in Barbagallo, 2018):

- oljčno olje je glavni vir maščob;
- uživanje svežega sadja, zelenjave, stročnic, oreščkov in semen;
- uživanje kruha in drugih izdelkov – npr. polnozrnatih testenin, riža;
- začimbe in zelišča – zagotavljajo okus, tako se porabljajo manjše količine soli;
- minimalna predelava živil, uživanje lokalnih in svežih živil;
- pogosto uživanje rib in morske hrane – 2- do 3-krat na teden;
- dnevno uživanje mlečnih izdelkov, predvsem jogurta in manjših porcij sira;
- rdeče meso se uživa zmerno, če je mogoče kot del recepture za obare in druge recepte, ter redko, 1- do 2-krat na mesec;
- jajca – za zagotovitev visokokakovostnih beljakovin;
- vsak dan sveže sadje za poobedek; sladkarije, tortice in mlečne sladice se jedo le redko in v majhnih količinah;
- pitje vode;
- pitje vina v zmernih količinah in ob jedi;
- zmerne porcije jedi;
- vsakodnevna zmerna telesna aktivnost;
- uživanje hrane v družbi.

Obstaja možnost, da MeDi vpliva na zdravje nevronov čez vse življenjsko obdobje. Dokazi iz več opazovalnih študij so pokazali, da obstaja povezava med prehranjevanjem v skladu z MeDi in pojavom več zaželenih možganskih struktur, ki varujejo možgane pred nevrodegeneracijo, vključno s povečano debelino možganske skorje, večjim volumnom možganov, upočasnjeno atrofijo hipokampusa, izboljšano strukturno povezljivostjo ter manjšim kopičenjem A $\beta$  tako v srednjih kot v poznih letih življenja (McGrattan idr., 2019). Jin idr. (2018) navajajo, da je učinek MeDi na zdravje živčevja povezan tudi z več drugimi bolezenskimi stanji, povezanimi z nastankom AB. Tako MeDi zmanjšuje tveganje za nastanek koronarne srčne bolezni, diabetesa, dislipidemije, hipertenzije in metabolnega sindroma. Avtorji še nadaljujejo, da ima MeDi očitne varovalne učinke pri kognitivnem upadu, saj je vnetje povezano s povišanim tveganjem za nastanek AB. Na primer C-reaktivni protein (v nadaljevanju: CRP) je vnetni kazalnik, ki so ga odkrili v nevritičnih plakih nevrofibrilarnih zank možganov bolnikov z AB, prehranjevanje po MeDi pa je povezano z nižjimi vsebnostmi CRP (Jin idr., 2018).

Ključne sestavine MeDi, kot so mastne ribe in omega-3 maščobne kisline, po drugi strani pa bioaktivni polifenoli, ki jih najdemo v sadju, zelenjavi, rdečem vinu in oljčnem olju, znižajo vnetne kazalnike (McGrattan idr., 2019). Kot že omenjeno, obstaja povezava med zmernim pitjem rdečega vina in preprečevanjem nastopa AB. To je zaradi njegovega polifenolnega profila. Pogosto pitje alkohola pa je povezano s tveganjem za razvoj demence (Mendiola-Precoma idr., 2016). Predhodni podatki tudi kažejo na pozitivno povezavo med MeDi in povišanim številom koristnih bakterijskih vrst, na primer *Bacteroidetes*, ter posledično njihovih KVMK, ki imajo prav tako protivnetni učinek (McGrattan idr., 2019), medtem ko je bil v isti študiji povišan vnos beljakovin živalskega izvora povezan z nižjo vsebnostjo *Bacteroidetes* (Garcia-Mantrana, Selma-Royo, Alcantara in Collado, 2018). Prav ti isti avtorji sklenejo, da je še zmeraj premalo znanega o vplivu prehrane in vzorcev prehranjevanja na sestavo črevesne mikrobiote (Garcia-Mantrana idr., 2018).

Več kohortnih študij, opravljenih v ZDA in Franciji, je tudi preučevalo vpliv MeDi na AB. Ugotovili so, da je kljub nekaj dokazom za povezavo med prehranjevanjem v skladu z MeDi in zmanjšanim tveganjem za AB treba raziskave razširiti na več različnih populacij iz različnih etničnih okolij in z različnimi vzorci prehranjevanja (Dominguez in Barbagallo, 2018). McGrattan idr. (2019) navajajo, da so se vidni koristni učinki MeDi na kognicijo pokazali predvsem v dalj časa trajajočih (12 mesecev in več) raziskavah ter pri posameznikih, ki so se prehranjevali bolj dosledno po MeDi.

V nadaljevanju bomo opisali tri ključne sestavine mediteranskega načina prehranjevanja, za katere obstaja vsaj delno dokazana korelacija z nastankom AB.

#### a) Omega-3 maščobne kisline

Večkrat nenasičene maščobne kisline (v nadaljevanju: VNMK) so eden od osnovnih gradnikov membran živčnih celic in skrbijo za njihovo fluidnost (Dominguez in Barbagallo,

2018). Poglavitni omega-3 VNMK sta dokozaheksaenojska (22:6) in eikozapentaenojska kislina (20:5) (Hu idr., 2016). Omega-3 VNMK so ključnega pomena za delovanje živčnih celic in možganov. Nizke vsebnosti omega-3 VNMK v telesu so morda povezane z različnimi nevrodegenerativnimi boleznimi, vključno z AB (Hu idr., 2016). Hu idr. (2016) ugotavljajo, da lahko visok prehranski vnos omega-3 VNMK zmanjša tveganje za nastanek AB in upočasni s starostjo pogojen kognitivni upad. Omega-3 VNMK, ki jih vnesemo s prehrano, lahko vplivajo na delovanje možganov prek vpliva na sestavo črevesne mikrobiote. Po drugi strani pa lahko zdravo črevesje in črevesna mikrobiota povečata absorpcijo omega-3 VNMK ter tako zmanjšata tveganje za nastanek AB. Obratno pa lahko črevesje in mikrobiota, katerih delovanje je moteno, zmanjšata zmožnost absorpcije omega-3 VNMK in tako povečata tveganje za nastanek AB (Hu idr., 2016).

#### *b) Resveratrol*

Resveratrol je polifenolna spojina, ki jo lahko najdemo v številnih rastlinah, še posebej v jagodičevju, arašidih in rdečem grozdju, ne nazadnje tudi v rdečem vinu (Mendiola-Precoma idr., 2016). Deluje antioksidativno, protivnetno in protirakavo. Je tudi fitoestrogen. Širi žile in varuje srce. Nekateri ga uvrščajo med morebitne terapevtske učinkovine pri boju proti nevrodegenerativnim boleznim, kot je AB (Mendiola-Precoma idr., 2016).

#### *c) Polnozrnati izdelki*

Za polnozrnate izdelke je značilno, da vsebujejo velike količine prehranskih vlaknin. Ker človeško telo nima encimov, s katerimi bi lahko razgradilo te strukture, prehranske vlaknine pripotujejo do debelega črevesa in črevesne mikrobiote, kjer spodbudijo rast različnih skupin koristnih bakterij (Graf idr., 2015).

Značilnosti diete DASH (Dominguez in Barbagallo, 2018):

- uživanje zelenjave, sadja in polnozrnatih izdelkov;
- vključevanje mlečnih izdelkov brez maščob ali z nižjo vsebnostjo maščobe, rib, perutnine, oreščkov in rastlinskih olj;
- omejitev vnosa živil, ki vsebujejo visoke količine nasičenih maščob, npr. mastnega mesa, polnomastnih mlečnih izdelkov, kokosovega in palminega olja;
- omejitev vnosa sladkih pijač in sladkarij.

Pokazalo se je, da je pri odraslih bolj dosledno upoštevanje diete DASH povezano z boljšo kognitivno funkcijo in upočasnjem kognitivnim upadom (Dominguez in Barbagallo, 2018; McGrattan idr., 2019), vendar si tudi tukaj mnenja niso enaka (McGrattan idr., 2019). Prehranjevanje po vzoru MeDi in DASH lahko zagotavlja zaščito pred nevrodegenerativnimi procesi med staranjem. Čeprav MeDi predpisujejo bolj koristne učinke, je slednje lahko posledica večjega števila raziskav, opravljenih o povezavi med MeDi in kognicijo, v primerjavi s številom raziskav o DASH ali drugih vzorcih prehranjevanja (McGrattan idr., 2019). Podobno kot MeDi se je pri prehranjevanju po smernicah DASH prav tako znatno

znižala vsebnost CRP proteina v primerjavi z običajno dieto (McGrattan idr., 2019). Ponovno pa velja poudariti, da je treba vse rezultate replicirati na drugih skupinah ljudi, da lahko z gotovostjo govorimo o njihovem koristnem učinku na zdravje možganov (Dominguez in Barbagallo, 2018).

## 5 RAZPRAVA

Razvoj in razpoložljivost novejših raziskovalnih metod nam omogoča vedno boljši vpogled v pomembnost in vlogo črevesne mikrobiote. Na sestavo slednje vpliva veliko število dejavnikov, med katerimi je prehrana ključnega pomena, saj lahko tako ne/posredno vplivamo tudi na zdravstveno stanje posameznika. Sodobna družba je zelo uspešno zmanjšala pojavnost z mikrobi pogojenih nalezljivih bolezni, medtem ko so avtoimune, kardiovaskularne, metabolne, nevroinflamatorne bolezni še vedno v porastu (Hill idr., 2014). V zaključni projektni nalogi smo želeli ugotoviti, kakšna so trenutna dognanja o povezavi med črevesno mikrobioto in patogenezo Alzheimerjeve bolezni. Na nastanek AB vpliva več dedno in okoljsko pogojenih dejavnikov. Ker lahko na okoljske dejavnike vplivamo, smo se na te tudi bolj osredotočili. Poglavitni okoljski dejavnik, na katerega lahko v največji meri vplivamo, je življenjski slog, pri katerem ima prehranjevanje eno od pomembnejših vlog.

Komunikacija med možgani in črevesjem je dvosmerna (os mikrobiota-črevesje-možgani) in vključuje živčne, metabolne, endokrine ter imunske poti (Powell, Walker in Talley, 2017). Čeprav je trenutno malo znanega o vlogi osi mikrobiota-črevesje-možgani pri razvoju AB, pa predklinične raziskave kažejo, da lahko prehrana ali modulatorji mikrobiote, npr. probiotiki, učinkujejo tako, da izboljšajo simptomatsko sliko nevrodegenerativnih bolezni (Sherwin idr., 2018). Tako lahko črevesna mikrobiota znatno vpliva na mnogo vidikov gostiteljeve fiziologije, med katere sodijo tudi: metabolizem hranil, odpornost proti okužbam in razvoj imunskega sistema (Fung idr., 2017). Mikrobi prav tako vplivajo na aktivacijo perifernih imunskih celic, ki nadzirajo imunski odgovor ob vnetju živcev, možganskih poškodbah, avtoimunskih reakcijah in nevrogenezi. V skladu s tem lahko trdimo, da sta tako mikrobiota, kot imunski sistem vključena v etiopatogenezo nevroloških bolezni ter psihiatričnih, kot tudi nevrodegenerativnih bolezni, kot so bolezni avtističnega spektra ter Alzheimerjeva bolezen (Fung idr., 2017).

Ugotovili smo, da je področje raziskav črevesne mikrobiote in njene povezanosti z nevrodegenerativnimi boleznimi še v začetni fazi, saj večina raziskav temelji na živalskih modelih. Tako so na primer Magarian-Blander idr. (2017) ugotovili, da moteno delovanje, oziroma odsotnost črevesne mikrobiote, poslabša delovanje KMP. Slednje vpliva na nezadostno izplavljanje A $\beta$  iz možganov, hkrati pa okvarjena funkcija KMP omogoča vstop patogenim mikroorganizmom, ki lahko v možganih povzročijo vnetje, kar povzroči dodatno kopičenje A $\beta$  in posledično nastanek AB. Na prepustnost KMP vpliva tudi starost, ki je eden poglavitnih dejavnikov tveganja za AB, hkrati pa je s starostjo pogojeno tudi neravnovesje v sestavi črevesne mikrobiote ali disbioza. Tako se zniža tudi zastopanost predstavnikov črevesne mikrobiote s protivnetnim delovanjem (npr. *Faecalibacterium prausnitzii*) (Leblhuber idr., 2018). V nalogi smo izpostavili le eno od možnih hipotez za nastanek AB, to je ti. amiloidna hipoteza. Trenutno obstaja več hipotez za nastanek AB, med njimi tudi hipoteza, da gre pri AB za ti. diabetes tipa-3 (Alkasir idr., 2017), pri katerem pa prevladujejo drugi patološki mehanizmi, ki prav tako vključujejo črevesno mikrobioto. Po pregledu



literature lahko povzamemo, da sta črevesna mikrobiota in AB zagotovo medsebojno povezani, vendar je podroben mehanizem nastanka bolezni zaenkrat še neznan.

V povezavi z načinom prehranjevanja so Noble idr. (2017) zapisali, da je s poškodbami KMP povezan tudi sodoben način prehranjevanja, kar lahko posledično vodi do kognitivnega upada. Prehranjevanje z visoko vsebnostjo enostavnih ogljikovih hidratov vpliva na inzulinsko rezistenco, poveča vnetje, prav tako pa poslabša delovanje KMP (Harding idr., 2017). Kot protiutež temu bi veljalo izpostaviti mediteranski način prehranjevanja, vendar pri tem razni avtorji ugotavljajo, da je še zmeraj premalo znanega o vplivu prehrane in vzorcev prehranjevanja na sestavo črevesne mikrobiote (Garcia idr., 2018). Tako bi bilo raziskave potrebno razširiti na različne populacijske vzorce, z različnim etničnim ozadjem in različnimi vzorci prehranjevanja (Dominguez in Barbagallo, 2018). S pregledom trenutnih raziskav lahko ugotovimo, da trenutno ni na voljo nobene znanstveno preverjene in priporočene prehranske intervencije, ki bi uspešno zaustavila napredovanje AB. Kljub temu pa epidemiološki podatki kažejo, da v kolikor posameznik uživa zdravo, uravnoteženo prehrano, v kombinaciji z zdravim življenjskim slogom, lahko na ta način izboljša stanje srčno-žilnega sistema in s tem zmanjša tveganje za nastanek AB (Dominguez in Barbagallo, 2018). Magarian-Blander idr. (2017) so na živalskih modelih ugotovili, da moteno delovanje oziroma odsotnost črevesne mikrobiote poslabša delovanje KMP. Slednje vpliva na nezadostno izplavljanje A $\beta$  iz možganov, obenem pa okvarjena KMP omogoča vstop patogenim mikroorganizmom, ki lahko v možganih povzročijo vnetje, kar povzroči dodatno kopičenje A $\beta$  in posledično nastanek AB. Potrebno bo opraviti tudi več raziskav pri ljudeh, predvsem pa pri bolnikih, ki trpijo za Alzheimerjevo boleznijo in so v različnih stadijih bolezni. S starostjo se povečuje tudi prepustnost črevesne pregrade, kar povzroči uhajanje mikrobnih metabolitov, ki nato povzročijo vnetje v možganih; že sama starost pa poveča tudi prepustnost KMP. Obenem se s starostjo povečuje tudi neravnovesje v sestavi črevesne mikrobiote ali disbioza. Zmanjšuje se število protivnetnih bakterij *Faecalibacterium prausnitzii* (Leblhuber idr., 2018), ki predstavljajo najštevilčnejšo populacijo bakterij v črevesju zdravega človeka (Chakraborti, 2015), kar bi bilo tudi lahko povezano s kopičenjem beta amiloida v možganih bolnikov z AB (Leblhuber idr., 2018).

Pri razvoju nevrodegenerativnih bolezni, med katere spada tudi AB, je potrebno upoštevati različne dejavnike, ki vključujejo genetsko osnovo posameznika kot tudi številne okoljske dejavnike, ki vplivajo na razvoj patoloških sprememb pri posamezniku. Novejše raziskave dokazujejo, da ima prehranjevanje pri tem pomembno vlogo, zato bi morali med ukrepe za zmanjševanje kognitivnega upada vključiti tudi osveščanje starejših o pomenu zdrave in uravnotežene prehrane.

## 6 ZAKLJUČEK

V sklopu zaključne naloge smo pregledali strokovne članke s področja črevesne mikrobiote in razvoja Alzheimerjeve bolezni. Ugotovili smo, da je med možgani in črevesno mikrobioto dvosmerna povezava, ki jo imenujemo os mikrobiota-črevesje-možgani in da preko te osi črevesna mikrobiota komunicira z možgani in obratno. Črevesna mikrobiota z možgani lahko komunicira neposredno, preko vagusnega živca, ali pa posredno, preko mikrobnih metabolitov, ki jih izločajo mikroorganizmi črevesne mikrobiote, ki nato vplivajo na delovanje in zdravje možganov. Ti mikrobni metaboliti so kratkoveržne maščobne kisline, ki predstavljajo glavni vir hrane za celice črevesnega epitelija, sledijo prenašalci živčnih impulzov (serotonin, GABA, glutamat), mikrobni amiloidi in lipopolisaharidi. Preko teh lahko črevesna mikrobiota vpliva na stopnjo vnetja, ki je eden izmed ključnih patoloških mehanizmov pri razvoju in napredovanju AB. Sestava črevesne mikrobiote je spremenljiva in je odvisna od več dejavnikov, kot so način poroda, stopnja izpostavljenosti različnim mikroorganizmom tekom odraščanja, raba antibiotikov, izpostavljenost stresu, starost ter način prehranjevanja. Rezultati raziskav nakazujejo, da ima sestava črevesne mikrobiote pomembno vlogo pri nastanku in razvoju AB. Pomemben vpliv na sestavo črevesne mikrobiote pa ima prehranjevanje, zato bi lahko s prehransko preventivo oziroma intervencijo preprečili razvoj bolezni ali pa vsaj zaustavili njeno napredovanje oz. omilili njene simptome. Trenutno lahko govorimo le o prehranski preventivi, saj ne obstaja dovolj dokazov, na podlagi katerih bi lahko predlagali priporočila za prehransko intervencijo.

## 7 VIRI

- Agahi, A., Hamidi, G. A., Hamdieh, M., Soheili, M., Alinaghipour, A., Esmaeili Taba, S. M. in Salami, M. (2018). Does severity of Alzheimer's disease contribute to its responsiveness to modifying gut microbiota? A double blind clinical trial. *Frontiers in neurology*, 9(662), 1–9. <http://doi:10.3389/fneur.2018.00662>.
- Akbari, E., Asemi, Z., Kakhaki, R. D., Bahmani, F., Kouchaki, E., Tamtaji, O. R., . . . Salami, M. (2016). Effect of probiotic supplementation on cognitive function and metabolic status in Alzheimer's disease: A randomized, double blind and controlled trial. *Frontiers in aging neuroscience*, 8(256), 1–8. <http://doi:10.3389/fnagi.2016.00256>.
- Alkasir, R., Li, J., Li, X., Jin, M. in Zhu, B. (2017). Human gut microbiota: the links with dementia development. *Protein & Cell*, 8(2), 90–102. <http://doi:10.1007/s13238-016-0338-6>.
- Bostanciklioğlu, M. (2019). The role of gut microbiota in pathogenesis of Alzheimer's disease. *Journal of applied microbiology*. <http://doi:10.1111/jam.14264>.
- Cattaneo, A., Cattane, N., Galluzzi, S., Provasi, S., Lopizzo, N. in Festari, C. (2017). Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiology of aging*, 49, 60–68. <http://doi:10.1016/j.neurobiolaging.2016.08.019>.
- Chakraborti, C. K. (2015). New-found link between microbiota and obesity. *World journal of gastrointestinal pathophysiology*, 16(4), 110–119. <http://doi:10.4291/wjjpg.v6.i4.110>.
- Chen, D., Yang, X., Lai, G., Yong, T., Tang, X., Shuai, O., . . . Wu, Q. (2017). Prebiotic effect of fructooligosaccharides from *Morinda officinalis* on Alzheimer's disease in rodent models by targeting the microbiota-gut-brain axis. *Frontiers in aging neuroscience*, 9(403) 1–28. <http://doi:10.3389/fnagi.2017.00403>.
- Čižman, M., Bajec, T., Korošec, A. (2017). *Poraba antibiotikov v Sloveniji in drugod po svetu*. Pridobljeno 27. 8. 2019 s [http://www.szpz.info/content/2018/podiplomskitecaj/Milan\\_Cizman\\_Tom\\_Bajec\\_Ales\\_Korosec-Poraba\\_antibiotikov\\_v\\_sloveniji\\_in\\_drugod.pdf](http://www.szpz.info/content/2018/podiplomskitecaj/Milan_Cizman_Tom_Bajec_Ales_Korosec-Poraba_antibiotikov_v_sloveniji_in_drugod.pdf)
- Daulatzai, M. A. (2014). Obesity and gut's dysbiosis promote neuroinflammation, cognitive impairment, and vulnerability to Alzheimer's disease: new directions and therapeutic implications. *Journal of molecular and genetic medicine*, S1(01), 5. <http://doi:10.4172/1747-0862.S1-005>.
- Dominguez, L. in Barbagallo, M. (2018). Nutritional prevention of cognitive decline and dementia. *Acta biomedica*, 89, 276–290. <http://doi:10.23750/abm.v89i2.7401>.
- Du, X., Wang, X. in Geng, M. (2018). Alzheimer's disease hypothesis and related therapies. *Translational neurodegeneration*, 7(1), 1–7. <http://doi:10.1186/s40035-018-0107-y>.

- Food and Agriculture Organization (FAO)/ World Health Organization (WHO). (2002). *Joint FAO/WHO Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food*. Pridobljeno 29. 5. 2019 s [https://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/en/probiotic\\_guidelines.pdf](https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf)
- Fung, T. C., Olson, C. A. in Hsiao, E. Y. (2017). Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease. *Nature neuroscience*, 20, 145–155. Pridobljeno 2. 5. 2019 s <https://www.nature.com/articles/nn.4476?proof=trueIn&draft=journal>.
- Garcia-Mantrana, I., Selma-Royo, M., Alcantara, C. in Collado, M. C. (2018). Shifts on gut microbiota associated to mediterranean diet adherence and specific dietary intakes on general adult population. *Frontiers in microbiology*, 9, 890, 1–11. doi:10.3389/fmicb.2018.00890.
- Giau, V. V., Wu, S. Y., Jamerlan, A., An, S. S., Kim, S. Y. in Hulme, J. (2018). Gut microbiota and their neuroinflammatory implications in Alzheimer's disease. *Nutrients*, 10(1765), 1–18. <http://doi:10.3390/nu10111765>.
- Graf, D., Di Cagno, R., Fåk, F., Flint, H. J., Nyman, M., Saarela, M. in Watzl, B. (2015). Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. *Microbial ecology in health and disease*, 26(1). <http://doi:10.3402/mehd.v26.26164>.
- Harding, A., Gonder, U., Robinson, S. J., Crean, S. J., & Singhrao, S. K. (2017). Exploring the association between Alzheimer's disease, oral health, microbial endocrinology and nutrition. *Frontiers in aging neuroscience*, 9(398), 1–13. <http://doi:10.3389/fnagi.2017.00398>.
- Hu, X., Wang, T. in Jin, F. (2016). Alzheimer's disease and gut microbiota. *Science China life sciences*, 59(10), 1006–1023. <http://doi:10.1007/s11427-016-5083-9>.
- Israelyan, N. in Margolis, K. G. (2019). Serotonin as a link between the gut-brain-microbiome axis in autism spectrum disorders. *Pharmacological research*, 140, 115–120. doi:10.1016/j.phrs.2018.12.023.
- Jeršek, B. (2013). *Navodila in delovni zvezek za vaje pri predmetu mikrobiološka analiza*. Pridobljeno 26. 8. 2019 s [http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2752/Mikrobioloska\\_analiza\\_2013.pdf](http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2752/Mikrobioloska_analiza_2013.pdf).
- Jiang, C., Li, G., Huang, P., Liu, Z. in Zhao, B. (2017). The gut microbiota and Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 58(1), 1–15. <http://doi:10.3233/JAD-161141>.
- Jin, Y. Y., Singh, P., Chung, H. J. in Hong, S. T. (2018). Blood ammonia as a possible etiological agent for Alzheimer's disease. *Nutrients*, 10(564), 1–13. <http://doi:10.3390/nu10050564>.
- Klímová, B. in Vališ, M. (2018). Nutritional interventions as beneficial strategies to delay cognitive decline in healthy older individuals. *Nutrients*, 10(7), 905, 1–10. <http://doi:10.3390/nu10070905>.

- Kowalski, K. in Mulak, A. (2019). Brain-gut-microbiota axis in Alzheimer's disease. *Journal of neurogastroenterology and motility*, 25(1), 48–60. [http://doi: 10.5056/jnm18087](http://doi:10.5056/jnm18087).
- Leblhuber, F., Steiner, K., Schuetz, B., Fuchs, D. in Gostner, J. (2018). Probiotic supplementation in patients with Alzheimer's dementia – an explorative intervention study. *Current Alzheimer research*, 15(12), 1106–1113. [http://doi: 10.2174/1389200219666180813144834](http://doi:10.2174/1389200219666180813144834).
- Luca, M., Luca, A. in Calandra, C. (2015). The role of oxidative damage in the pathogenesis and progression of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015, 504678, 1–9. <http://doi:10.1155/2015/504678>.
- Luca, M., Di Mauro, M. [Marco], Di Mauro, M. [Maurizio] in Luca, A. (2019). Gut microbiota in Alzheimer's disease, depression, and type 2 diabetes mellitus: the role of oxidative stress. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 1–10. <http://doi:10.1155/2019/4730539>.
- Magarian-Blander, J. M., Longman, R. S., Iliev, I. D., Sonnenberg, G. F. in Artis, D. (2017). Regulation of inflammation by microbiota interactions with the host. *Nature immunology*, 18(8), 851–860. <http://doi:10.1038/ni.3780>.
- Marungruang, N. (2018). *Gut microbiota to counteract metabolic disorders and neuroinflammation. Impact of dietary factors and their potential to prevent Alzheimer's disease* (doktorska naloga). Lund: Lund University, Department of food technology, engineering and nutrition. Pridobljeno s: <https://lup.lub.lu.se/search/publication/04d3a40b-88ab-4c35-ae1b-b3bbd1ca3657>.
- McGrattan, A., McGuinness, B., McKinley, M., Kee, F., Passmore, P., Woodside, J. In McEvoy, C. (2019). Diet and inflammation in cognitive ageing and Alzheimer's disease. *Current nutrition reports*, 8(2), 53–65. [http://doi: 10.1007/s13668-019-0271-4](http://doi:10.1007/s13668-019-0271-4).
- Mendiola-Precoma, J., Berumen, L. C., Padilla, K. in Garcia-Alcocer, G. (2016). Therapies for prevention and treatment of Alzheimer's disease. *BioMed research international*, 2016, 2589276, 1–17. <http://doi:10.1155/2016/2589276>.
- Nik Azm, S. A., Djazayeri, A., Safa, M., Azami, K., Djalali, M., Sharifzadeh, M. in Vafa, M. (2017). Probiotics improve insulin resistance status in an experimental model of Alzheimer's disease. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 31(1), 699–704. <http://doi:10.14196/mjiri.31.103>.
- Noble, E., Hsu, T. in Kanoski, S. (2017). Gut to brain dysbiosis: mechanisms linking western diet consumption, the microbiome, and cognitive impairment. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 11(9). [http://doi: 10.3389/fnbeh.2017.00009](http://doi:10.3389/fnbeh.2017.00009).
- Oleskin, A. V. in Shenderov, B. A. (2016). Neuromodulatory effects and targets of the SCFAs and gastrotransmitters produced by the human symbiotic microbiota. *Microbial ecology in health and disease*, 27(1), 30971. [http:// doi:10.3402/mehd.v27.30971](http://doi:10.3402/mehd.v27.30971).

- Peña-Altamira, E., Petralla, S., Massenzio, F., Virgili, M., Bolognesi, M. L. in Monti, B. (2017). Nutritional and pharmacological strategies to regulate microglial polarization in cognitive aging and Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 9, 1–15. <http://doi:10.3389/fnagi.2017.00175>.
- Powell, N., Walker, M. M. in Talley, N. J. (2017). The mucosal immune system: master regulator of bidirectional gut-brain communications. *Nature reviews. gastroenterology & hepatology*, 14(3), 143–159. <http://doi:10.1038/nrgastro.2016.191>.
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G., Gasbarrini, A. in Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14. <http://doi:10.3390/microorganisms7010014>.
- Sherwin, E., Dinan, T. in Cryan, J. (2017). Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease. *Annals of the New York academy of sciences*, 1420(1), 5–25. <http://doi:10.1111/nyas.13416>.
- Tremlett, H., Bauer, K. C., Apple-Cresswell, S., Finlay, B. B. in Waubant, E. (2017). The gut microbiome in human neurological disease: a review. *Annals of neurology*, 81(3), 369–382. <http://doi:10.1002/ana.24901>.
- Valdes, A. M., Walter, J., Segal, E. in Spector, T. D. (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ*, 2018, 361. <http://doi:10.1136/bmj.k2179>.