Utjecaj unosa kiseloga kupusa na sastav crijevne mikrobiote aktivnih športaša

Karačić, Andrija

Doctoral thesis / Disertacija

2025

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:661068

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Andrija Karačić

UTJECAJ UNOSA KISELOGA KUPUSA NA SASTAV CRIJEVNE MIKROBIOTE AKTIVNIH ŠPORTAŠA

DOKTORSKI RAD

Mentor:

Prof. dr. sc. Antonio Starčević

Zagreb, 2025.

Sveučilište u Zagrebu

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Andrija Karačić

IMPACT OF SAUERKRAUT INTAKE ON THE GUT MICROBIOTA COMPOSITION OF ACTIVE ATHLETES

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor:

PhD Antonio Starčević, Full Professor

Zagreb, 2025

Doktorski rad je izrađen u tvrtki Centar Mikrobiom d.o.o., Zagreb, i u Laboratoriju za bioinformatiku na Sveučilištu u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet.

Informacije o mentoru:

prof. dr. sc. Antonio Starčević

Antonio Starčević diplomirao je na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer biokemijsko-mikrobiološki. Doktorat je stekao na tehničkom sveučilištu u Kaiserslauternu, Njemačka. Trenutno, Antonio Starčević kado redoviti profesor na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu u Zagrebu, u Laboratoriju za Bioinformatiku drži kolegij iz bioinformatike, proteomike i biotehnologije na diplomskom i poslijediplomskom studiju. Dosada je publicirao 41 originalnih znanstvenih radova referenciranih u "Web of Science Core Collection" bazi podataka, gdje ima H-indeks 14. U ulozi suradnika i voditelja bio je uključen u niz nacionalnih i međunarodnih projekata, a sudjelovao je i u projektima transfera tehnologije kao što su "Proof of concept" - PoC projekti Ureda za transfer tehnologije Sveučilišta u Zagrebu i Tehnološki projekti Ministarstva Znanosti i Obrazovanja. Kao prvi autor, sudjelovao je u dvije patentne prijave, od kojih je jedna, proizišla iz rada na doktorskoj disertaciji prihvaćena kao WIPO (PCT) patent za "in silico metodu za anotaciju genskih nakupina sekundarnih metabolita i za generiranje novih biološki aktivnih kemijskih entiteta na temelju sekvencija DNA" – WO2009130520A1.

Prvenstveno iskreno zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Antoniju Starčeviću na pruženoj prilici, poticajima i ukazanome povjerenju, komentarima, diskusijama, prepravkama, uloženom trudu i iznimnom strpljenju tijekom vođenja ovog rada.

Također, posebno zahvaljujem prof. dr. sc. Jasni Novak, doc. dr. sc. Ana-Mariji Liberati Pršo, prof. dr. sc. Blaženki Kos, prof. dr. sc. Zvonimiru Šatariću i prof. dr. sc. Donatelli Verbanac koji su strpljivo čitali i savjetima unaprijedili moj rad, od prijave teme, objave znanstvenih istraživanja do same izrade disertacije.

Veliko hvala Jadranu, Iri, Matiji, Eni i Katji bez kojih ovaj rad ne bi mogao biti nikad realiziran.

Zahvaljujem članovima Stručnoga povjerenstva za ocjenu i obranu doktorskoga rada, na svim korisnim komentarima i sugestijama koje su rad učinile boljim.

Posebno se zahvaljujem svojim roditeljima, rodbini, kumovima i prijateljima na bezuvjetnoj ljubavi i podršci tijekom cjelokupnog školovanja te na povjerenju, strpljenju i razumijevanju koje su imali u i za mene.

Naravno, najveće hvala mojoj supruzi Katarini i kćerima Ivi Stani i Anici koje su podnijele najveći teret mojeg angažmana na ovom istraživanju, na beskrajnom strpljenju, podršci i pomoći.

Ovaj doktorski rad posvećujem svom selu Crvenicama, kraju poznatom upravo po kupusu.

Tema disertacije prihvaćena je na 2. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu *u akademskoj god. 2023./2024. održanoj 15.11.2023., a Senat Sveučilišta u Zagrebu donio je odluku o pokretanju postupka stjecanja doktorata u okviru doktorskog studija, 11. lipnja 2024. godine, na 9. redovitoj sjednici održanoj u 355. akademskoj godini (2023./2024).*

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Doktorski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni poslijediplomski studij Biotehnologija i bioprocesno inženjerstvo, prehrambena tehnologija i nutricionizam

UDK: 582.23:591.434:635.34:796.071.2(043.3)
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija i bioprocesno inženjerstvo

UTJECAJ UNOSA KISELOGA KUPUSA NA SASTAV CRIJEVNE MIKROBIOTE AKTIVNIH ŠPORTAŠA

Andrija Karačić, dr.med.

Rad je izrađen u tvrtki Centar Mikrobiom d.o.o., Zagreb, i u Laboratoriju za bioinformatiku na Sveučilištu u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Mentor: prof.dr.sc. Antonio Starčević

Sažetak: Crijevna mikrobiota je od velike važnosti za sportsku izvedbu i zdravlje športaša. Fermentirane namirnice pokazale su se iznimno učinkovitim u personalizaciji crijevne mikrobiote. Cilj ove disertacije bio je ispitati učinak kiseloga kupusa na sastav i funkcionalnost crijevne mikrobiote aktivnih športaša kako bi se ispitao potencijal njegove primjene u personalizaciji njihove crijevne mikrobiote. Nadalje, ispitana je mikrobna zajednica kiseloga kupusa te su praćeni i laboratorijski parametri i rad probave u sklopu intervencije. Provedena su sveukupno tri istraživanja na aktivnim športašima: studija dokazivanja koncepta na profesionalnim športašima, potvrdna studija na rekreativnim športašima te jedna longitudinalna studija na jednom ispitaniku. Pokazali smo kako kod profesionalnih športaša uslijed 10 dana unosa 250g kiseloga kupusa može doći do značajnih promjena u sastavu i funkcionalnosti crijevne mikrobiote, ali ne i po pitanju α-raznolikosti. Kod rekreativnih športaša nakon 10 dana unosa 250g kiseloga kupusa nisu dokazani isti kratkoročni učinci. Time smo pokazali smo kako promjene izazvane intervencijom ovise o početnom sastavu crijevne mikrobiote. Pokazali smo kako unos 250g kiseloga kupusa tokom 10 dana može dugoročno promijeniti sastav i funkcionalnost crijevne mikrobiote. Longitudinalnom studijom te praćenjem probave i nuspojava pokazali smo kako je 250g kiseloga kupusa potrebno unositi minimalno tjedan dana. Utvrđeno je kako 10 dana unosa 250g kiseloga kupusa rezultira značajnim promjenama u diferencijalnoj krvnoj slici i smanjenjem koncentracije vitamina B12. Zaključno možemo ustvrditi kako kiseli kupus ima potencijal u personalizaciji crijevne mikrobiote športaša.

Broj stranica: 197
Broj slika: 22
Broj tablica: 37
Broj literaturnih navoda: 516
Broj priloga: 0
Jezik izvornika: Hrvatski
Ključne riječi: crijevna mikrobiota; športaši; profesionalni športaši; fermentirana hrana; kiseli kupus; sinbiotici
Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:
1. prof. dr. sc. Blaženka Kos, redoviti profesor u trajnom zvanju
2. prof. dr. sc. Jurica Žučko, redoviti profesor
3. prof. dr. sc. Donatella Verbanac, redoviti profesor

Rad je pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb i Sveučilištu u Zagrebu, Trg Republike Hrvatske 14.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Ph.D. thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Postgraduate study in Biotechnology and Bioprocess Engineering, Food Technology and Nutrition

UDK: 582.23:591.434:635.34:796.071.2(043.3)
Scientific Area: Biotechnical Science
Scientific Filed: Biotechnology

IMPACT OF SAUERKRAUT INTAKE ON THE GUT MICROBIOTA COMPOSITION OF ACTIVE ATHLETES

Andrija Karačić, MD

Thesis performed at the company Centar Mikrobiom Ltd., Zagreb and at the Laboratory for Bioinformatics, of the University of Zagreb Faculty of Food and Biotechnology.
Supervisor: PhD Antonio Starčević, Full professor

Abstract: The gut microbiota plays a crucial role in athletic performance and the health of athletes. Fermented foods have proven to be effective in personalizing the gut microbiota. This dissertation aimed to investigate the effect of sauerkraut intake on the composition and functionality of the gut microbiota in active athletes to assess its potential application in personalizing their gut microbiota. Additionally, the microbial community of sauerkraut was examined, and laboratory parameters and digestive function were monitored during the intervention. Three studies were conducted on active athletes: a proof-of-concept study on professional athletes, a follow-up study on recreational athletes, and a longitudinal study on a single participant. We demonstrated that a 10-day intake of 250g of sauerkraut can lead to significant changes in the composition and functionality of the gut microbiota in professional athletes, though not in terms of α-diversity. In recreational athletes the same short-term effects were not not observed. We found that the changes induced by the intervention depend on the initial composition of the gut microbiota. We have found that a 10-day intake of 250g of sauerkraut can induce significant long-term changes in the composition and functionality of the gut microbiota Through the longitudinal study and monitoring of digestion and side effects, we determined that a minimum of one week of 250g daily sauerkraut intake is necessary. It was established that a 10-day intake of 250g of sauerkraut results in significant changes in differential blood counts and a decrease in vitamin B12 concentration. In conclusion, sauerkraut has the potential to personalize the gut microbiota of athletes.

Number of pages: 197
Number of figures: 22
Number of tables: 37
Number of references: 516
Number of supplements: 0
Original in: Croatian

Key words: gut microbiota; athletes; professional athletes; fermented food; sauerkraut; synbiotics

Date of the thesis defense:

Reviewers:
1. PhD Blaženka Kos, Full Professor having a tenure
2. PhD Jurica Žučko, Full Professor
3. PhD Donatella Verbanac, Full Professor

Thesis deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology at the University of Zagreb, Kačićeva 23, National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb and University of Zagreb, Trg Republike Hrvatske

UTJECAJ UNOSA KISELOGA KUPUSA NA SASTAV CRIJEVNE MIKROBIOTE AKTIVNIH ŠPORTAŠA

Sažetak

Crijevna mikrobiota je od velike važnosti za sportsku izvedbu i zdravlje športaša. Personalizacija crijevne mikrobiote prehranom te kroz primjenu pro-, pre- i postbiotika je od velike važnosti u stručnoj brizi za zdravlje športaša. Fermentirane namirnice pokazale su se, zbog svojih nutritivnih vrijednosti i svoje vlastite mikrobiote i metaboloma, iznimno učinkovitim u personalizaciji crijevne mikrobiote. Cilj ove disertacije bio je ispitati učinak kiseloga kupusa na sastav i funkcionalnost crijevne mikrobiote aktivnih športaša kako bi se ispitao potencijal njegove primjene u personalizaciji njihove crijevne mikrobiote. Nadalje, ispitana je mikrobna zajednica kiseloga kupusa te su praćeni i laboratorijski parametri i rad probave u sklopu intervencije. Provedena su sveukupno tri istraživanja na aktivnim športašima: studija dokazivanja koncepta na profesionalnim športašima, potvrdna studija na rekreativnim športašima te jedna longitudinalna studija na jednom ispitaniku. Pokazali smo kako kod profesionalnih športaša uslijed 10 dana unosa 250g kiseloga kupusa može doći do značajnih promjena u sastavu i funkcionalnosti crijevne mikrobiote, ali ne i po pitanju α-raznolikosti. Evidentirano je značajno povećanje udjela više rodova iz obitelji *Lachnospiraceae* uz istodobno značajno smanjenje udjela dva roda iz obitelji *Oscillospiraceae.* Iako su promjene u sastavu crijevne mikrobiote potencijalno lažno pozitivne, funkcionalnost crijevne mikrobiote bila je značajno promijenjena bez znakova lažne pozitivnosti. Čak 18,4% svih metaboličkih puteva bilo je pogođeno intervencijom, primarno povezanih sa sintezom staničnih stijenki i metabolizmom nukleotidnih baza. Kod rekreativnih športaša nakon 10 dana unosa 250g kiseloga kupusa nisu dokazani isti kratkoročni učinci. Sve kratkoročne značajne promjene u sastavu i funkcionalnosti pokazale su se lažno pozitivnima. Time smo pokazali kako promjene izazvane intervencijom ovise o početnom sastavu crijevne mikrobiote. Pokazali smo kako unos 250g kiseloga kupusa tokom 10 dana može dugoročno promijeniti sastav i funkcionalnost crijevne mikrobiote. Uključivanjem rezultata nakon faze ispiranja pokazali smo značajne promjene u sastavu, čak na razini koljena, i funkcionalnosti, konkretno metabolizmom nukleotidnih baza, sve bez naznaka lažne pozitivnosti. Longitudinalnom studijom te praćenjem probave i nuspojava pokazali smo kako je 250g kiseloga kupusa potrebno unositi minimalno tjedan dana za značajnije promjene u crijevnoj mikrobioti. Utvrđeno je kako 10 dana unosa 250g kiseloga kupusa rezultira značajnim promjenama u diferencijalnoj krvnoj slici i

smanjenjem koncentracije vitamina B12. Zaključno možemo ustvrditi kako kiseli kupus ima potencijal u personalizaciji crijevne mikrobiote športaša.

Ključne riječi: crijevna mikrobiota; fermentirana hrana; kiseli kupus; profesionalni športaši; sinbiotici; športaši;

IMPACT OF SAUERKRAUT INTAKE ON THE GUT MICROBIOTA COMPOSITION OF ACTIVE ATHLETES

Abstract

The gut microbiota plays a crucial role in athletic performance and the health of athletes. Personalizing the gut microbiota through diet, as well as the use of pro-, pre- and synbiotics, is essential in the care for the health of athletes. Fermented foods have proven to be effective in personalizing the gut microbiota due to their nutritional value and inherent microbiota and metabolome. This dissertation aimed to investigate the effect of sauerkraut intake on the composition and functionality of the gut microbiota in active athletes to assess its potential application in personalizing their gut microbiota. Additionally, the microbial community of sauerkraut was examined, and laboratory parameters and digestive function were monitored during the intervention. Three studies were conducted on active athletes: a proof-of-concept study on professional athletes, a follow-up study on recreational athletes, and a longitudinal study on a single participant. We demonstrated that a 10-day intake of 250g of sauerkraut can lead to significant changes in the composition and functionality of the gut microbiota in professional athletes, though not in terms of α-diversity. A significant increase in the relative abundance of multiple genera from the *Lachnospiraceae* family was observed, accompanied by a concurrent significant decrease in the relative abundance of two genera from the *Oscillospiraceae* family. While the shifts in gut microbiota composition may represent potential false positives, the functionality of the gut microbiota was significantly altered without indications of false positivity. Notably, 18.4% of all metabolic pathways were affected by the intervention, primarily those associated with cell wall biosynthesis and nucleotide metabolism. In recreational athletes the same short-term effects were not observed. All significant short-term changes in composition and functionality were found to be false positives. We found that the changes induced by the intervention depend on the initial composition of the gut microbiota. We have found that a 10-day intake of 250g of sauerkraut can induce significant long-term changes in the composition and functionality of the gut microbiota. By including the results after the washout phase, we demonstrated significant changes in composition, even at phylum level, as well as functionality, all with no indications of false positivity. Through the longitudinal study and monitoring of digestion and side effects, we determined that a minimum of one week of 250g daily sauerkraut intake is necessary for significant changes in the gut microbiota. It was established that a 10-day intake of 250g of sauerkraut results in significant changes in differential blood counts and a decrease in vitamin B12 concentration.

In conclusion, sauerkraut has the potential to for the personalization of the gut microbiota of athletes.

Keywords: athletes; fermented food; gut microbiota; professional athletes; sauerkraut; synbiotics

SADRŽAJ

1. UVOD ... 1
1.1. Hipoteza i ciljevi istraživanja ... 7
2. TEORIJSKI-DIO ... 9
2.1. Crijevna mikrobiota športaša ... 10
2.2. Fizička aktivnost i CM ... 15
2.3. Personalizacija CM športaša ... 18
2.3.1. Učinak prehrane na sastav CM ... 19
2.3.2. Utjecaj unosa soli na sastav crijevnog mikrobioma ... 22
2.3.3. Utjecaj suplementacije na sastav CM ... 23
2.3.4. Utjecaj prehrambenih aditiva na CM ... 25
2.3.5. Učinak probiotika na CM športaša ... 26
2.3.6. Utjecaj unosa fermentirane hrane ... 35
2.4. Metode ... 50
2.4.1. Određivanje unosa hrane i pića kod športaša ... 50
2.4.2. Analiza mikrobiote amplikon sekvenciranjem ... 52
3. EKSPERIMENTALNI DIO ... 57
3.1. Mikrobna zajednica kiseloga kupusa ... 58
3.2. KOMS 1 Studija dokazivanja koncepta („proof-of-concept study“) ... 59
3.2.1. Dizajn istraživanja ... 59
3.2.2. Ispitanici ... 60
3.2.3. Protokol suplementacije ... 61
3.2.4. Standardizacija tjelesne aktivnosti, sna i prehrane ... 62
3.2.5. 16S rRNA NGS analiza crijevne mikrobiote ... 62
3.2.6. Laboratorijska analiza ... 64
3.2.7. Statistička analiza ... 64
3.3. KOMS 2 Potvrdna studija („follow-up study“) ... 66
3.3.1. Dizajn istraživanja ... 66
3.3.2. Ispitanici ... 69
3.3.3. Protokol suplementacije ... 69
3.3.4. Standardizacija tjelesne aktivnosti, sna i prehrane ... 70
3.3.5. 16S rRNA NGS analiza crijevne mikrobiote ... 71
3.3.6. Laboratorijska analiza ... 72
3.3.7. Statistička analiza ... 72
3.4. KOMS3 Longitudinalna studija ... 74
3.4.1. Dizajn istraživanja ... 74
3.4.2. Obrada podataka ... 75

4. REZULTATI 77
4.1. Mikrobna zajednica-kiseloga kupusa 78
4.2. KOMS 1 Studija dokazivanja koncepta („proof-of-concept study“) 78
4.2.1. Ispitanici 78
4.2.2. Tjelesna aktivnost i san 80
4.2.3. Prehrana 81
4.2.4. Probava i nuspojave 83
4.2.5. Promjene u sastavu crijevne mikrobiote (CM) *ispitanika* 84
4.2.5.1. Sastav crijevne mikrobiote (CM) ispitanika 85
4.2.5.2. Funkcionalnost crijevne mikrobiote (CM) 89
4.2.6. Laboratorijske analize krvi ispitanika 92
4.3. KOMS 2 Potvrdna studija („follow-up study“) 94
4.3.1. Ispitanici 94
4.3.2. Tjelesna aktivnost i san ispitanika 95
4.3.3. Prehrana ispitanika 95
4.3.4. Probava i nuspojave kod ispitanika 97
4.3.5. Promjene u sastavu crijevne mikrobiote (CM) 98
4.3.5.1. Sastav crijevne mikrobiote ispitanika (CM) 99
4.3.5.2. Funkcionalnost crijevne mikrobiote ispitanika 106
4.3.6. Laboratorijske analize krvi ispitanika 109
4.4. KOMS 3 Longitudinalna studija 110
4.4.1. Ispitanik 110
4.4.2. Čimbenici zabune 110
4.4.3. Promjene u CM ispitanika 113
4.4.4. Probava i nuspojave 118
5. RASPRAVA 119
5.1. Učinak kiseloga kupusa na crijevnu mikrobiotu ispitivanih sportaša 123
5.2. Učinak kiseloga kupusa na laboratorijske parametre krvi ispitivanih športaša 128
5.3. Nuspojave unosa kiseloga kupusa kod ispitivanih športaša 130
5.4. Nedostaci provedenog istraživanja 131
6. ZAKLJUČCI 135
7.POPIS LITERATURE 137
POPIS KRATICA 193
ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA 195

1. UVOD

Zahvaljujući napretku biotehnoloških metoda, područje crijevne mikrobiote privuklo je veliki interes šire znanstvene zajednice. Crijevna mikrobiota, ili u kontekstu njezinog genetskog potencijala crijevni mikrobiom, (CM) označava zajednicu mikroorganizama koji naseljava sluznicu crijeva probavnog sustava (SEBASTIÁN DOMINGO i SÁNCHEZ SÁNCHEZ, 2018). Ovaj složeni eko-sustav čini: 100 trilijuna pojedinačnih mikroorganizama iz svih taksonomskih skupina (MATIJAŠIĆ *i sur.*, 2020), 1000 vrsta različitih mikroorganizama, metabolički potencijal višestruko veći od jetre (SENDER *i sur.*, 2016). Tijekom proteklog desetljeća od 2010., koje se naziva i "zlatno doba CM" veliki broj korelacijskih studija (HOOKS i O'MALLEY, 2020) ukazao je na višestruku povezanost CM i organa i organskih sustava našeg organizma: probavnog sustava, metabolizma, imunosti, kao i središnjeg živčanog sustava (BRÜLS i WEISSENBACH, 2011; CLEMENTE *i sur.*, 2012; ROWLAND *i sur.*, 2018). Na temelju spoznaja iz sve brže rastućeg broja istraživanja na ovu temu može se zaključiti kako CM ima regulatornu funkciju u održavanju homeostaze, ali i alostaze tijela i svih njegovih komponenti (KHO i LAL, 2018). Stoga danas nemali broj znanstvenika iz domena biotehnologije i biomedicine CM smatra nezavisnim organskim sustavom unutar ljudskog tijela, čiji je on pak domaćin (STEPHENS *i sur.*, 2018). Interakcija domaćina i CM u kontekstu zdravog funkcioniranja organizma je nepobitna.

Danas sve veći broj istraživanje ukazuje na ulogu CM, odnosno poremećaja istog u razvoju i održavanju različitih patoloških stanja u organizmu. Od kroničnih hormonalnih i metaboličkih bolesti pa do psiholoških poremećaja (HUANG *i sur.*, 2019a), bezbroj bolesti se danas nastoji povezati sa specifičnim odrednicama CM, kao što su njezina raznolikost, uravnoteženost, funkcionalnost, ali i relativni udjeli određenih taksonomskih skupina. Najveći broj bolesti i poremećaja je tako u istraživanjima korelirano sa smanjenom raznolikošću unutar CM iskazanom relativno sniženim Shannon-indeksom kao pokazateljem α-raznolikosti, neuravnoteženošću u smislu omjera između glavnih bakterijskih koljena Firmicutes i Bacteroidetes kao i sniženim relativnim udjelima komenzalnih bakterija iz funkcionalnih skupina povezanih s proizvodnjom metabolita kao što su butirat i drugih kratkolančanih masnih kiselina, laktat, GABA i serotonin (WEI *i sur.*., 2021). No, istraživanja u smjeru specifičnih promjena unutar CM u sklopu nekog određenog patološkog stanja su komplicirana velikim brojem i razmjerom interindividualnih varijacija u sastavu i funkcionalnosti CM. S obzirom na visoku osjetljivost CM na bezbroj unutarnjih i vanjskih čimbenika po pitanju njezinih odrednica (FASSARELLA *i sur.*, 2021), istraživanja su pokazala kako je zahtjevno izolirati povezanost fenomena unutar CM opisanih unutar istraživane populacije oboljele od neke bolesti od velikog broja čimbenika koji su mogli prouzročiti zapažene fenomene. Štoviše, zbog teške

objektivizacije mnogih čimbenika koji utječu na sastav CM, kao što su prehrana (BAILEY, 2021), psihički i emotivni status (GERVASI i MANDALARI, 2023) i zagađenje okoliša (HEIDARI i LAWRENCE, 2024) vrlo je teško uopće uzeti u obzir sve potencijalne čimbenike zabune. Dokazano je kako neki parametri sastava CM, koji su se pokazali kao potencijalni dijagnostički biljezi za jedno patološko stanje unutar jedne populacije, ne posjeduju istu osjetljivost i specifičnost za isto patološke stanje u nekoj drugoj bilo demografskoj, geografskoj ili socioekonomičnoj populaciji.

Dodatan izazov u istraživanju potencijalnih dijagnostičkih biljega iz domene taksonomskih skupina predstavljaju promjene u nomenklaturi prokariota. Iako ne postoji službena klasifikacija prokariota, postoji postoji službena nomenklatura prokariota temeljena na međunarodno dogovorenim pravilima koja regulira „International Committee on Systematics of Prokaryotes“, kratko ICSP. U 2021. godini je ICSP uvrstio koljena u taksonomske nazive obuhvaćene Međunarodnim kodeksom nomenklature prokariota (ICNP) što zahtijeva da se nazivi bakterijskih koljena formiraju dodatkom sufiksa ” -ota” na korijen njihovog naziva (OREN i GARRITY, 2021). A 2020. godine usvojena i nova nomenklatura za rod *Lactobacillus.* No, i danas je u publiciranim znanstvenim radovima u primjeni stara nomenklatura, kao što je to slučaj u istraživanjima u sklopu ovog doktorskog rada.

Uzimajući u obzir sve navedeno, istraživanja na CM je potrebno provoditi u vrlo precizno definiranim uvjetima po pitanju mogućeg utjecaja svih poznatih vanjskih i unutarnjih čimbenika, koji bi mogli mijenjati sastav CM. Jedino tako je moguće odrediti eventualnu korelaciju između nekog detektiranog fenomena unutar CM i nekog patološkog stanja u danoj populaciji. Isključivo akumulacijom spoznaja iz ovakvih visoko-kvalitetnih istraživanja teoretski je moguće odrediti temeljne nepoznanice u znanosti o CM, a to su referentne vrijednosti za pojedine odrednice sastava i funkcionalnosti CM. Iako postoje saznanja o važnosti pojedinih parametara analize CM, koji govore o njezinoj raznolikosti, uravnoteženosti i funkcionalnosti, nedostaju koncizne informacije o njihovim referentnim vrijednostima u nekoj određenoj populaciji. Na temelju današnjih istraživanje nemoguće je definirati što je nizak ili visok Shannon-indeks, nizak ili visok omjer između Firmicutes i Bacteroidetes ili pak nizak ili visok relativni udio pojedinačne bakterijske vrste. Pogotovo ako nisu provedene velike nacionalne ili međunarodne populacijske studije, kao što su primjerice provedene u SAD-u, Kini i državama Zapadne Europe (VANDEPUTTE *i sur.*, 2017), primjerice u Hrvatskoj.

Jedna, na globalnoj razini, vrlo slabo istražena populacija u kontekstu CM su športaši, posebice profesionalni. Iako postoje saznanja o takozvanoj uvjetovano rečeno tipičnoj sportskoj crijevnoj mikrobioti i njezinim karakterističnim obilježjima (MOHR *i sur.*, 2020), nedostaje istraživanja koja se sustavno bave crijevnom mikrobiotom profesionalnih športaša. Zbog malog broja istraživanja u ovom području i velikih razlika u metodama i provedbi istih, teško je formirati zaključke o tipičnoj CM profesionalnih športaša. Primjerice, s obzirom na velike razlike među različitim sportovima po pitanju fizioloških zahtjeva na tijelo, vrlo je vjerojatno kako se parametri CM razlikuju ovisno o tome bavi li se osoba aerobnom ili anaerobnim sportskim aktivnostima (O'DONOVAN *i sur.*, 2020). Ova činjenica značajno doprinosi složenosti istraživanja CM športaša, uz naravno gore navedene vanjske i unutarnje čimbenike čiji učinak interferira s utjecajem sportske aktivnosti na CM športaša. . Na temelju dosadašnjih spoznaja, možemo zaključiti kako će generalizacija o tipičnim odrednicama CM svih športaša biti iznimno teška, ali da će se moći precizno definirati značajke CM športaša određene sportske discipline unutar jasno ograničene populacije.

Pored velikog zanimanja za samu CM i njezine odrednice, još veće zanimanje izaziva mogućnost personalizacije CM s ciljem postizanja blagotvornih učinaka na zdravlje. U tom kontekstu dostupne su i tradicionalne metode, koje su primjenjivane i prije današnje popularnosti CM. Najpopularniji su pritom kako u znanosti tako i u kliničkoj praksi zasigurno probiotici. Otkriveni još tijekom prošlog stoljeća, oni su živi mikroorganizmi (HILL *i sur.*, 2014) koji po dospijeću u crijevni mikrobni eko-sustav moduliraju njegov sastav i funkcionalnosti i time izazivaju pozitivne učinke na zdravlje (ISLAM, 2016). Pored probiotika, govori se i o prebioticima kao supstratima koji su selektivno iskoristivi od strane određenih članova CM (GIBSON *i sur.*, 2017), zbog čega će unosom prebiotika doći do personalizacije CM u smislu porasta relativnih udjela bakterija koje imaju dokazane blagotvorne učinke po ljudsko zdravlje (CUNNINGHAM *i sur.*, 2021). Najnovija skupina biotika, odnosno tvari s dokazanom sposobnošću personalizacije CM su postbiotici. Postibiotici, ili parabiotici ili metabiotici, su definirani kao jedna vrlo široka skupina različitih kemijskih tvari, koja seže od komponenti probiotika do mrtvih probiotika („probiotici duhovi") (TSILINGIRI i RESCIGNO, 2013; SALMINEN *i sur.*, 2021a) .

Pored primjene izoliranih tvari, kao što su probiotici, prebiotici ili postbiotici, sve više se istražuje i utjecaj promjene vanjskih i unutarnjih čimbenika životnog stila u modulaciji CM, kao što su prehrana, ali i psiha kroz različite oblike psihoterapije (QUIGLEY i GAJULA, 2020). Unutar prehrane tako se istražuju pored različitih tipova prehrane (veganska prehrana,

mediteranska prehrana) i učinak određenih namirnica. U području personalizacije CM često se koriste fermentirane namirnice (VINDEROLA *i sur.*, 2023), koje uslijed fermentaciju bivaju obogaćene probioticima, postbioticima i bioaktivnim metabolitima istih, a često po svojoj prirodi i originalno sadrže prebiotike. Fermentirane namirnice, bili biljne ili mliječne, tako se smatraju sinbioticima jer su medij koji sadrži kombinaciju svih poznatih tvari za modulaciju CM (SWANSON *i sur.*, 2020). Iako manje istražene nego sami probiotici, unos fermentiranih namirnica se pokazao učinkovit u modulaciji CM (WASTYK *i sur.*, 2021).

Po pitanju personalizacije CM športaša dostupan je relativno malen broj istraživanja, pogotovo u usporedbi s drugim populacijama, kao što su to primjerice pretile osobe ili oboljeli od karcinoma probavnog sustava ili kroničnih upalnih bolesti crijeva. Primjena probiotika kod športaša je istražena (WOSINSKA *i sur.*, 2019), no često isključivo u kontekstu ostvarivanja određenog željenog učinka na zdravlje, ne uzimajući u obzir pritom modulaciju CM u tom procesu. Danas je na temelju dosad dostupnih spoznaja primjena probiotika kod športaša preporučena u prevenciji razvoja respiratornih i gastrointestinalnih infekcija (JÄGER *i sur.*, 2019). Primjena pak fermentiranih namirnica kao sinbiotika u smislu personalizacije CM je kod športaša vrlo slabo istražena. Iako postoje istraživanja na temu primjene fermentiranih namirnica na športašima, opetovanim pretraživanjem literature nije pronađeno istraživanje koje je istraživalo učinak fermentirane namirnice na CM kod športaša.

Liječnici i nutricionisti koji se bave personalizacijom CM športaša suočeni su s velikim deficitom kvalitetnih istraživanja, zbog čega danas športaši imaju vrlo ograničene mogućnosti primjene znanstveno dokazanih metoda za personalizacije CM, što je zasigurno šteta s obzirom na ogromni potencijal CM u sportskoj medicini.

S obzirom na detektirane potrebe, koncipirano je istraživanje koje će ispitivati učinak kiseloga kupusa, kao prototipne fermentirane namirnice srednjoeuropskog podneblja, na CM športaša.

Planirano istraživanje će jednim dijelom doprinijeti razumijevanju CM športaša. U Hrvatskoj, ali i okolnim državama je dosad provedeno relativno malen broj istraživanja CM kod športaša (HADŽIĆ *i sur.*, 2023). Podaci proizašli iz istraživanja polučit će novim uvidima u sastav i funkcionalnost CM hrvatskih športaša. Pošto će se pratiti različiti unutarnji i vanjski čimbenici, kao što su prehrana, san i tjelovježba, očekuje se kako će se približno moći izolirati utjecaj bavljenja sportom na CM. Posebice će biti zanimljivo pokušati ustanoviti povezanost između sporta i odrednica CM kao što su vrijednosti Shannon-indeksa (raznolikost), omjer

Firmicutes/Bacteroidetes te relativnih udjela biomedicinski relevantnih skupina bakterija na razini koljena, rodova, vrsta i sojeva.

No, najveći doprinos istraživanja vidimo u ispitivanju utjecaja fermentirane namirnice, konkretno kiseloga kupusa u svrhu personalizacije CM športaša. Iako je primjena probiotika kod športaša istraživana, makar ne nužno i po pitanju personalizacije CM, globalno nedostaje podataka o učinku fermentiranih namirnica na CM športaša. Rezultati istraživanja bit će prvi na svijetu koji će ukazati na potencijalne posljedice primjene fermentirane namirnice na CM u ovoj specifičnoj populaciji.

Time se prvenstveno stvara temelj za buduća istraživanja na temu fermentiranih namirnica u kontekstu zdravlja športaša. Što u kontekstu njihovog potencijalnog ergogenog učinka u smislu poboljšanja sportskih performansi, ili pak poboljšanju zdravstvenog statusa športaša.

Dodatno će se rasvijetliti utjecaj unosa kiseloga kupusa na CM. Iako je kiseli kupus široko dostupna, tradicionalna fermentirana namirnica širom Europe, ali i Kine, njezin utjecaj na CM istražen je po našem saznanju samo u dva istraživanja. Iako će istraživanje primarno biti provedeno u kontekstu sportske populacije, spoznaje i uvidi ovog istraživanja poslužit će zasigurno generalno boljem razumijevanju ove iznimno zanimljive namirnice u kontekstu CM.

Posebno je vrijedno što će se dobiti informacije za izradu budućih istraživačkih protokola u smislu trajanja i intenziteta intervencije, jer trenutno ne postoje znanstveno potvrđene informacije o minimalnoj duljini trajanja i minimalnom intenzitetu (dozi) intervencije po pitanju personalizacije CM fermentiranim namirnicama kod športaša. Isto vrijedi i za moguće nuspojave koje bi športaši mogli iskusiti u slučaju primjene fermentiranih namirnica. Iako će istraživanje biti provedeno na minimalnom broju ispitanika, bez kontrole placebom, zbog načina provedbe i isključivanja većine potencijalnih vanjskih i unutarnjih čimbenika zabune, istraživanje će pružati vrijedne rezultate koji će postaviti temelje za smjernice za personalizaciju CM športaša koje očekujemo u skoroj budućnosti.

Stoga su postavljeni sljedeći ciljevi ovog doktorskog rada

2. istražiti sastav mikrobne zajednicekiseloga kupusa.
3. ispitati potencijal po pitanju promjena sastava CM športaša uslijed unosa kiseloga kupusa.
4. ispitati je li jedna porcija kiseloga kupusa dnevno dostatna kako bi se promijenio CM.
5. istražiti može li unos kiseloga kupusa pozitivno utjecati na odrednice CM, odnosno personalizirati sastav i funkcionalnost CM.

6. ispitati ovisi li učinak kiseloga kupusa na CM o njezinom ishodišnom sastavu.
7. ispitati je li učinak unosa kiseloga kupusa na CM prolazan.
8. istražiti je li primjena kiseloga kupusa kod športaša povezana s nuspojavama.

1.1.Hipoteza i ciljevi istraživanja

Hipoteza istraživanja je kako kiseli kupus prolazno utječe na sastav CM.

Primarni cilj istraživanja je ustanoviti promjene u sastavu CM nakon desetodnevnog unosa kiseloga kupusa izražene kroz promjene specifičnih parametara i na taj način evaluirati učinkovitost kiseloga kupusa kao sinbiotika.

2. TEORIJSKI-DIO

- Crijevna mikrobiota športaša
- Fizička aktivnost i crijevna mikrobiota
- Personalizacija crijevne mikrobiote športaša
- Prehrana i crijevna mikrobiota
- Fermentirana hrana i crijevna mikrobiota

2.1. Crijevna mikrobiota športaša

Iako nikad nećemo znati kako ljudsko tijelo funkcionira bez upliva CM, danas sigurno znamo kako CM utječe na mnoge, ako ne i sve, procese u ljudskom tijelu. Pošto tijelo športaša mora savršeno uravnoteženo funkcionirati na najvišoj razini, razumljivo je kako je uloga CM kod športaša još značajnija. Iako je značaj ovog sustava otkriven tek tokom prošlih desetljeća, CM zasigurno već stoljećima pomaže športašima ostvariti svoje najbolje rezultate.

CM svoj utjecaj vrši uglavnom proizvodnjom metabolita. CM kroz proizvodnju kratkolančanih masnih kiselina (SCFA) pozitivno utječe na performanse kod dugotrajne fizičke aktivnosti (MACH i FUSTER-BOTELLA, 2017). Pored SCFA, CM posreduje i u sintezi neuroaktivnih supstanci, serotonin, dopamin i GABA koje kontroliraju os crijevo-mozak i os hipotalamus-hipofiza putem vagusa (EISENSTEIN, 2016) i hormona (RHEE *i sur.*, 2009). Razmatrajući metabolički potencijal, CM doslovno djeluje kao i endokrini organ jer njegovi metaboliti po dospijeću u intersticij prelaze u sustavnu cirkulaciju gdje dospijevaju u ciljne organe (jetra, mišić, CNS) (CRONIN *i sur.*, 2017) te imaju regulatornu funkciju na metaboličke i imunosne procese (CHOI *i sur.*, 2013b; EVANS *i sur.*, 2014; KANG *i sur.*, 2014). Putem osi crijevo-mozak (JENKINS *i sur.*, 2016) CM utječe na osjećaj umora, motivaciju i raspoloženje (CLARK i MACH, 2016). Radi se o pozitivnoj sprezi, dvosmjernom učinku, u kojem fizička aktivnost pozitivno utječe na CM a povratno CM pozitivno utječe na izvedbu fizičke aktivnosti (TURPIN-NOLAN *i sur.*, 2019), s time da fizička aktivnost utječe i na os crijevo-mozak (DALTON *i sur.*, 2019). Nova istraživanja idu u prilog pretpostavkama da su športaši koji su bili uspješniji na natjecanjima imali raznolikiji i bogatiji CM, sa statističkim značajnim razlikama u sastavu CM u usporedbi s kontrolnom skupinom ispitanika (FU *i sur.*, 2024).

CM športaša je zahtjevno proučavati zbog učestalih faza pripreme i natjecanja, kao i bezbroj drugih selektivnih stresora po aspektu prehrane, stila života i same sportske aktivnosti koji mogu otežati istraživanje međuodnosa sportskog načina života i CM, odnosno moraju biti uzeti u obzir. Iako je CM profesionalnih športaša i dalje relativno manje istražen nego onaj drugih populacija (BARTON *i sur.*, 2018), prema dostupnim podacima u literaturi očite su stanovite razlike između CM profesionalnih športaša i fizički vrlo aktivnih pojedinaca i osoba sa sjedilačkim životnim navikama (BRESSA *i sur.*, 2017). Vjerojatno je da je CM profesionalnih športaša okarakteriziran idućim obilježjima (Tablica 1, Slika 1).

Tablica 1 Obilježja CM profesionalnih športaša u usporedbi s osobama sa sjedilačkim načinom života

Odrednica	**Parametar**	**Reference**
veća α-raznolikost	Shannon indeks↑	(CLARKE *i sur.*, 2014; ESTAKI *i sur.*, 2016; MÖRKL *i sur.*, 2017)
viši udjeli blagotvornih bakterija/arheja	koljeno Bacteroidetes↑ rodovi *Prevotella, Methanobrevibacter*↑ vrste *Akkermansia muciniphila, Veillonella atypica*↑	(PETERSEN *i sur.*, 2017; SCHEIMAN *i sur.*, 2019; HINTIKKA *i sur.*, 2022; XU *i sur.*, 2022)
veća funkcionalnost	viši udjeli metaboličkih puteva aminokiselina, ugljikohidrata, SCFA↑	(MATSUMOTO *i sur.*, 2008; ALLEN *i sur.*, 2018; BARTON *i sur.*, 2018; FONTANA *i sur.*, 2023; KASPEREK *i sur.*, 2023)

Profesionalni športaši, konkretno trkači maratona, imaju povećane relativne udjele vrste *Veillonella atypica* koja predstavlja metaboličku prednost pri sportskoj izvedbi, pogotovo dugotrajnoj aerobnoj fizičkoj aktivnosti, zbog mogućnosti konverzije laktata proizvedenog radom mišića u kratkolančanu masnu kiselinu propionat koja može poslužiti kao dodatan izvor energije (SCHEIMAN *i sur.*, 2019). No, u znanstvenoj literaturi detektirane su i druge mikrobne vrste CM koji mogu koristiti laktat za proizvodnju SCFA, konkretno butirata (DUNCAN *i sur.*, 2004). U predkliničkim studijama je primjena ove vrste polučila 13% povećanjem sposobnosti aerobne aktivnosti (SCHEIMAN *i sur.*, 2019).

Više studija je pokazalo kako su kod športaša zastupljenije vrste *Blautia* i *Roseburia* iz obitelji *Lachnospiraceae*, koje se često povezuju sa zdravom CM. Ove bakterije se ubrajaju u glavne proizvođače SCFA (PARK *i sur.*, 2012; MURUGESAN *i sur.*, 2015; KOH *i sur.*, 2016; LA ROSA *i sur.*, 2019). *Blautia* i *Roseburia* su bakterijski rodovi najviše uključeni u regulaciji upalnih procesa u crijevima, regulaciji ateroskleroze i sazrijevanja imunološkog sustava, ukazujući na to kako krajnji proizvodi bakterijskog metabolizma (SCFA) posreduju u tim učincima (ATARASHI *i sur.*, 2011; KASAHARA *i sur.*, 2018).

Prema literaturi pretpostavlja se povezanost između VO_2max, maksimalnog aerobnog kapaciteta, i CM športaša, pogotovo njezinih metaboličkih funkcija. VO_2max kao mjera kardiorespiratorne spremnosti športaša (AHMADI i MEKARI, 2024) pozitivno je korelirana s većom raznolikošću, većim omjerom Firmicutes i Bacteroidetes, višim udjelima *Clostridiales, Roseburia, Lachnospiraceae, Erysipelotrichaceae* i većim udjelima metaboličkih puteva (ESTAKI *i sur.*, 2016; DURK *i sur.*, 2019). Koristeći VO_2max kao nezavisni parametar može se objasniti otprilike 20% interindividualne varijabilnosti CM, više nego što to čine spol, dob, indeks tjelesne mase ili određen prehrambene odrednice (DR. SHATAKSHI *i sur.*, 2024). Kardiorespiratorna spremnost je pouzdan prediktor funkcionalnosti CM (MATSUMOTO *i sur.*, 2008), što je potvrđeno i u najnovijim istraživanjima (HUMIŃSKA-LISOWSKA *i sur.*, 2024).

Detektirane razlike, odnosno raznolikiji i funkcionalniji CM športaša je kumulativna posljedica dužeg vremenskog razdoblja obilježenog visokim unosom nutrijenata (proteini kod anaerobnih sportova, UH kod aerobnih sportova) i visokim razinama fizičke aktivnosti (BOISSEAU *i sur.*, 2022). Predklinička istraživanja ukazuju na to kako povećana fizička aktivnost značajnije utječe na sastav CM u mlađoj životnoj dobi. S obzirom na kompleksnost interakcija CM i domaćina vrlo je teško diferencirati koliko prehrana, a koliko fizička aktivnost utječu na specifične promjene kod CM športaša (JANG *i sur.*, 2019b).

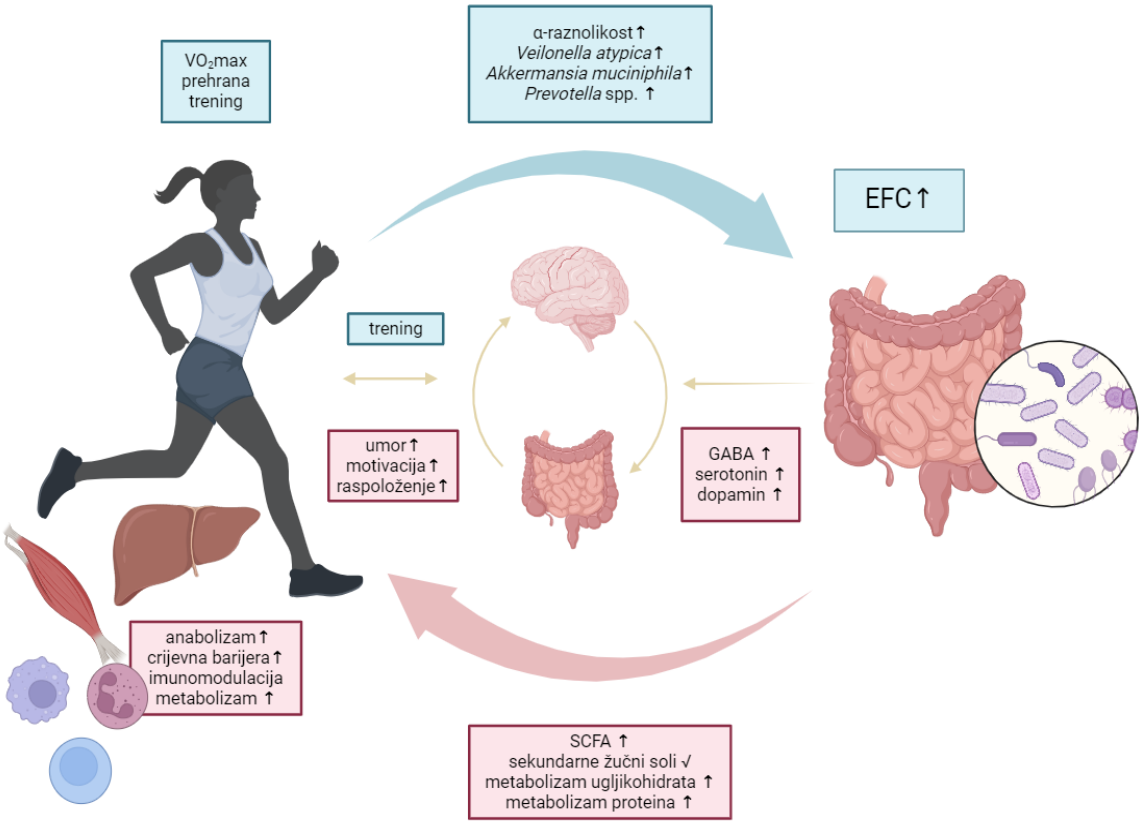
Pored prednosti u samom sastavu, velik naglasak se u literaturi o CM športaša stavlja na povećanu funkcionalnost u smislu sposobnosti za regeneraciju tkiva, veća mogućnost ekstrakcije energije iz prehrane, pogotovo iz ugljikohidrata te povećana sposobnost stvaranja odnosno biosinteze staničnih struktura i nukleotida. Novija istraživanja su pokazala kako se između športaša i osoba sa sedentarnim načinom života razlikuju enzimatske funkcionalne skupine („enzymatic functional cluster“, EFC) bakterija, odnosno kako je EFC športaša povezan s većim brojem sintaza s visokim biološkim utjecajem (HBIS) i čak sedam puta više enzima (742 naspram 105 enzima). Specifični životni stil športaša vrši selektivni stres na CM te mu promjenom sastava daje veću enzimatsku sposobnost, s pozitivnim učincima po zdravlje športaša i mišićni status (FONTANA *i sur.*, 2023).

Skeletni mišić je pod direktnim utjecajem CM putem osi crijevo-mišić (BINDELS i DELZENNE, 2013; NAY *i sur.*, 2019; TICINESI *i sur.*, 2019). Analizom CM, odnosno detekcijom disbioze moguće je predvidjeti koje će osobe patiti od sarkopenije (PICCA *i sur.*, 2018). Kod športaša se

analizom CM može evaluirati proupalni odgovor, metabolizam pro-anaboličkih metabolita (SCFA, sekundarne žučne soli) (CANFORA *i sur.*, 2015; FRAMPTON *i sur.*, 2020) i mikronutrijenata (LEBLANC *i sur.*, 2013) i metabolizam proteina, procese ključne za fiziologiju mišićnog tkiva (PONZIANI *i sur.*, 2017; PICCA *i sur.*, 2018). Os crijevo-mišić funkcionira dvosmjerno te kemijski signali iz mišićnog sustava oblikuju i CM (LUSTGARTEN, 2019), isto kao što CM oblikuje i regulira rad skeletnog mišićja (CAESAR *i sur.*, 2015; TICINESI *i sur.*, 2017). Personalizacija CM kroz primjenu probiotika i drugih načina povećanja proizvodnje SCFA pokazala se učinkovitom u predkliničkim studijama za očuvanje mišićne mase (WALSH *i sur.*, 2015; VARIAN *i sur.*, 2016; LEE *i sur.*, 2021; YEH *i sur.*, 2022; MUYYARIKKANDY *i sur.*, 2023), ali čak i hipertrofiju istog (PROKOPIDIS *i sur.*, 2023). Na životinjskom modelu ustanovljeno je kako je poremećaj CM povezan s poremećajem potpunog oporavka mišićja nakon fizičkog napora (VALENTINO *i sur.*, 2021). Zanimljivo je istraživanje na eksperimentalnom modelu miševa, koje je pokazalo kako CM regulira jednu populaciju regulatornih T stanica, koje se nakupljaju nakon oštećenja mišića i ubrzavaju oporavak mišića, smanjuju upalu i razvoj fibroze i ožiljkastog tkiva (HANNA *i sur.*, 2023).

U kontekstu športaša i CM bitno je spomenuti crijevnu barijeru. Crijevna barijera je složeni funkcionalni sustav unutar stijenke crijeva koji ima dvojaku funkciju: s jedne strane apsorpciju nutrijenata, a s druge strane zaštita od transfera potencijalnih noksi (toksini, patogeni) iz lumena crijeva u cirkulaciju (VANCAMELBEKE i VERMEIRE, 2017). Sastoji se od fizičkih (epitelne stanice i sluz), kemijskih (antimikrobni peptidi), imunoloških (GALT – „gut-associated lymphoid tissue“) i mikrobioloških (crijevna mikrobiota) komponenti. Disfunkcija crijevne barijere, odnosno njezinih komponenti, može dovesti do povećane propusnosti crijeva, odnosno transfera noksi u lokalnu, a potom i sustavnu cirkulaciju (BISCHOFF *i sur.*, 2014) . Nokse u lokalnoj i sustavnoj cirkulaciji mogu potaknuti različite patofiziološke procese, uglavnom povezane s povećanjem proupalnog odgovora i njime povezanih metaboličkih procesa (ALGHAMDI *i sur.*, 2024; SNELSON *i sur.*, 2024). A taj proupalni odgovor pak dodatno pogoršava propusnost crijevne barijere (PETERS *i sur.*, 2001; ZUHL *i sur.*, 2014). Intenzivna sportska aktivnost povezana je s narušavanjem crijevne barijere (ROCA RUBIO *i sur.*, 2024), pogotovo ako su one dužeg trajanja i iscrpljujuće (CLARK i MACH, 2016; TICINESI *i sur.*, 2019) zbog preraspodjele cirkulacije (KEIRNS *i sur.*, 2020) i posljedične ishemije fizičkih i imunoloških komponenti crijevne barijere (MOSES, 2005; DE OLIVEIRA i BURINI, 2011). Crijevna barijera biva narušavana zbog stresnog odgovora u sklopu trenažnog procesa (KUMAR *i sur.*, 2007; JONES *i sur.*, 2012) od strane katekolamina i glukokortikoida putem osi hipofiza-

nadbubrežna žlijezda i simpatiko-adrenomedularne osi (ULRICH-LAI i HERMAN, 2009). Zbog tog su probavne smetnje učestao problem športaša, pogotovo u sportovima izdržljivosti (JEUKENDRUP *i sur.*, 2000; STUEMPFLE i HOFFMAN, 2015). To je dodatan razlog zašto su adekvatne količine metabolita CM, kao mikrobiološke komponente crijevne barijere, ključne za zdravlje športaša (DOLAN i CHANG, 2017): SCFA i sekundarne žučne soli djeluju protektivno na crijevnu barijeru. Smatra se kako je CM potrebno 72 sata kako bi se oporavila u potpunosti od prekomjerne iscrpljujuće sportske aktivnosti (WANG *i sur.*, 2012).



Slika 1 Interakcija sporta i crijevne mikrobiote (vlastita slika izrađena u programu BioRender)

Povezanost različitih sportskih disciplina i sastava CM još nije razjašnjen. Istraživačko je pitanje da li je bavljenje određenom sportskom disciplinom povezano i porastom udjela specifičnih bakterija. Iako su neka istraživanja ukazala na stanovite razlike u CM športaša ovisno o sportskoj disciplini (O'DONOVAN *i sur.*, 2020) i obliku fizičke aktivnosti (BYCURA *i sur.*, 2021), druga istraživanja u većini slučajeva nisu ustanovila razlike u α i β raznolikosti među različitim vrstama sportova (MOHR *i sur.*, 2020; AYA *i sur.*, 2021). S obzirom da različite sportske discipline imaju različite učinke ovisno o spolu i izazivaju različite obrasce imunosnog

odgovora (LI *i sur.*, 2023b), vjerojatno i CM oblikuju na sebi svojstven način. Zbog mnoštva drugih čimbenika koji utječu na CM, teško je izolirati učinak same sportske discipline u okviru znanstvenog istraživanja. No, s obzirom na dosadašnje spoznaje za očekivati je kako će se u budućnosti precizno definirati profil CM-a ovisno o sportskoj disciplini.

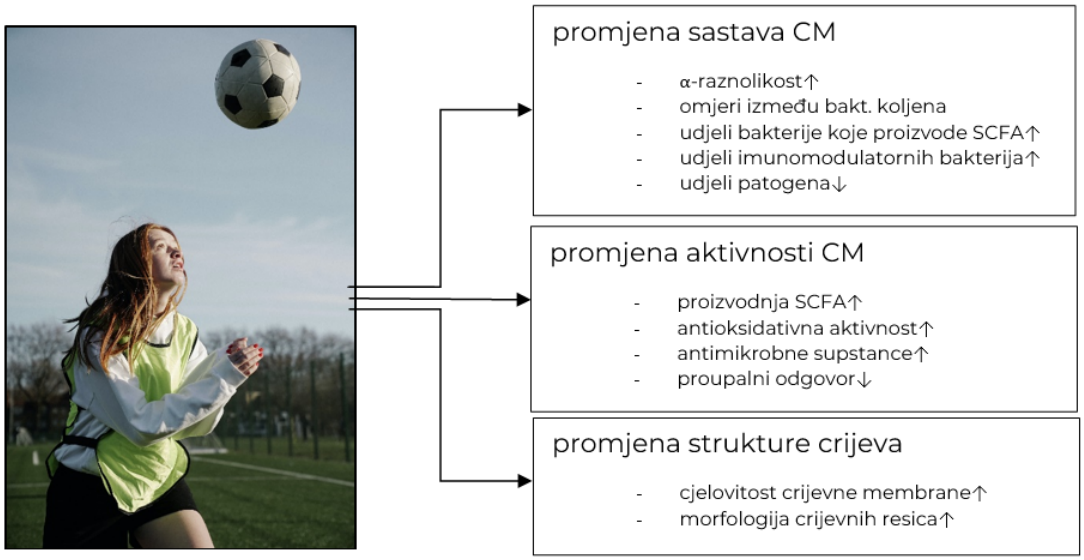
2.1. Fizička aktivnost i CM

Sport i fizička aktivnost, neovisno o prehrani, utječe na CM (ORTIZ-ALVAREZ *i sur.*, 2020). Fizička aktivnost, odnosno svaki oblik kretanja prilikom koje kontrakcije skeletnih mišića dovode do povećane potrošnje energije, dovodi do promjena ne samo po pitanju hormetičkog učinka na cjelokupno zdravlje, fizičku kondiciju i izdržljivost, kardiovaskularno zdravlje, psihičko i mentalno zdravlje, već i na CM (AYA *i sur.*, 2021) 2021). Ovaj učinak opisan je prvo u presječnim istraživanjima (CLARKE *i sur.*, 2014; BRESSA *i sur.*, 2017; STEWART *i sur.*, 2017; YANG *i sur.*, 2017; NOLTE *i sur.*, 2023), a kasnije i potvrđen u intervencijskim istraživanjima (MUNUKKA *i sur.*, 2018; SMITH *i sur.*, 2022) s treningom snage i izdržljivosti, pa čak i u specifičnim populacijama kao što su oboljeli od kroničnih upalnih bolesti crijeva primjerice (SHEFLIN *i sur.*, 2017; MARTTINEN *i sur.*, 2020; DORELLI *i sur.*, 2021). Neki autori smatraju kako je fizička aktivnost blagotvorna za kronične upalne bolesti crijeva (BILSKI *i sur.*, 2014), što je vjerojatno posljedica njezinog utjecaja na CM (PETERS *i sur.*, 2001). Fizička aktivnost i CM su u dvosmjernoj interakciji. Fizička aktivnost ima različite kvantitativne i kvalitativne utjecaje na CM s implikacijama po športaše (MAILING *i sur.*, 2019; WEGIERSKA *i sur.*, 2022) (Tablica 2, Slika 2).

Tablica 2 Utjecaj fizičke aktivnosti na crijevnu mikrobiotu

Odrednica	**Parametar**	**Reference**
povećanje α-raznolikosti	Shannon indeks ↑↓√	(CERDÁ *i sur.*, 2016; ESTAKI *i sur.*, 2016; ORTIZ-ALVAREZ *i sur.*, 2020)
uravnoteženost CM-a	Firmicutes/Bacteroidetes omjer	(EVANS *i sur.*, 2014)
viši udjeli blagotvornih bakterija - mukozalni imunitet - crijevna barijera	rodovi *Bifidobacterium, Roseburia, Lactobacillus* vrsta *Akkermansia muciniphila, Faecalibacterium prausnitzii*	(FLYNN i MCFARLIN, 2006; CAMPBELL i WISNIEWSKI, 2017; O'BRIEN *i sur.*, 2022; LEWIS *i sur.*, 2024)
niži udjeli patogenih bakterija	rodovi *Blautia, Haemophilus*	(KULECKA *i sur.*, 2020)
poboljšana funkcionalnost	proizvodnja antimikrobnih tvari proizvodnja SCFA aktivnost antioksidativnih enzima	(MATSUMOTO *i sur.*, 2008; ALLEN *i sur.*, 2018; ORTIZ-ALVAREZ *i sur.*, 2020)
očuvanje crijevne membrane	ekspresija čvrstih veza	(COOK *i sur.*, 2013; ZUHL *i sur.*, 2014)
održavanje morfologije crijeva	duljina i struktura vila	
modulacija upalnog odgovora	ekspresija TNF razine proupalnih citokina	(CLARK i MACH, 2017)

-



Slika 2: Utjecaj fizičke aktivnosti na CM (vlastita slika izrađena u programu Microsoft Word)

Smatra se kako je učinak na CM u obliku J-krivulje (CHAMORRO-VIÑA *i sur.*, 2013). Bavljenje fizičkom aktivnošću je povezano s gore navedenim pozitivnim učincima. No, isto tako prekomjerna fizička aktivnost u kombinaciji s neadekvatnom prehranom, nedostatnim snom i oporavkom može djelovati kao stresor na CM zbog negativnih posljedica na os crijevo-mozak (CLARK i MACH, 2016), često u sklopu sindroma relativnog energetskog deficita (RED-s). Pogoršanje stanja CM može povratno dodatno opteretiti os crijevo-mozak (MARGOLIS *i sur.*, 2021). Uslijed pretreniranosti može doći do povećane propusnosti crijevne membrane kao što je u prijašnjem poglavlju objašnjeno (WOSINSKA *i sur.*, 2019). Pretreniranost je povezana i sa imunodepresijom (akutno imuna zatajenje, kronična supresija imunosnih čimbenika) zbog smanjenja funkcionalnosti imunosnih stanica zbog čega dolazi do povećane osjetljivost na razvoj infekcija gornjeg dišnog sustava i probavnog sustava (GLEESON *i sur.*, 2011b).

Fizička aktivnost povećanog intenziteta ili duljeg trajanja može predstavljati stres za probavni sustav i njegov mikrobiom i povećati propusnost crijevne membrane (CLAUSS *i sur.*, 2021). To se može odraziti razvojem probavnih tegoba kao što su grčevi, žgaravica, mučnina, povraćanje, proljev ili pak smanjenjem sportske izvedbe (GISOLFI, 2000). Pored potencijalnog preventivnog djelovanja na gore navedene štetne posljedice ekscesa u fizičkoj aktivnosti, imunomodulacija probioticima može biti ključna u prevenciji infekcija, posebice gornjeg dišnog sustava zbog povećanja razina obrane odnosno robustnosti imuniteta.

2.3. Personalizacija CM športaša

U profesionalnom sportu 21. stoljeća personaliziran pristup u pripremi vrhunskih športaša postaje sve više standard. Smatra se kako upravo kroz personaliziran pristup može rezultirati maksimalni potencijal športaša za izvedbu vrhunskih sportskih rezultata (NOLTE *i sur.*, 2023). Individualna prilagodba trenažnog procesa, prehrane, suplementacije i plana oporavka specifičnim potrebama, uvjetima i željama pojedinačnog športaša smatra se ključem uspjeha u suvremenom sportu (PRZEWŁÓCKA *i sur.*, 2024). Vjeruje se kako čak i športaši koji u datom trenutku postižu visoke rezultate mogu unaprijediti svoje rezultate kroz individualizaciju gore navedenih čimbenika.

Najnovija istraživanja pokazuju kako CM igra značajnu ulogu u sportskoj izvedbi, zbog čega se sportska medicina i nutricionizam sve više okreću dijagnostici i personalizaciji CM. CM je u složenoj dvosmjernoj interakciji kako s prehranom tako i s fizičkom aktivnošću, zbog čega je osmišljen koncept prehrana-CM-fizička aktivnost (BOISSEAU *i sur.*, 2022). Istraživanja su potvrdila kako CM utječe na sportsku izvedbu, a prehrana i fizička aktivnost pak utječu na sastav i aktivnost CM (DONATI ZEPPA *i sur.*, 2019). No, zbog velike interindividualne varijabilnosti personalizaciju CM moguće je provesti isključivo kroz personaliziran pristup i visoku razinu individualizacije (QUIGLEY i GAJULA, 2020). Stoga će personalizacija CM vjerojatno u budućnosti postati ključna stavka u pripremi vrhunskih športaša zbog implikacija po prehranu, suplementaciju i trenažni proces, ali i individualizaciju brige o zdravlju športaša.

Svrha personalizacije CM kod športaša može biti stimulativni učinak na cjelokupno zdravlje kroz očuvanje zdravlja CM, olakšanje prilagodbe na trenažni napor i poboljšanje oporavka te poticanje sportske izvedbe. Personalizaciju je moguće provesti kroz različite prehrambene intervencije, te pro-,pre- i postbioticima kao ciljanim sredstvima za modulaciju CM. Za provedbu personalizacije CM športaša potreban je integrativan pristup njegovom zdravlju koji dijagnostički i terapijski uključuje i sve različite faktore koji nisu direktno povezani s prehranom i suplementacijom, a imaju značajan utjecaj na CM kao što su san i psihičko zdravlje (GIL-HERNÁNDEZ *i sur.*, 2023; XIONG *i sur.*, 2023) . Preporuka je proces personalizacije popratiti redovitim serijskim analizama CM kako bi se pratio uspjeh intervencije (NOLTE *i sur.*, 2023), pogotovo u kontekstu razdoblja natjecanja i priprema (AKAZAWA *i sur.*, 2023).

Prehranom je moguće uvesti promjene već u roku od 24 sata (DAVID *i sur.*, 2014; SON *i sur.*, 2020). Prehrana je najvažnija odrednica sastava CM (SINGH *i sur.*, 2017; MAKKI *i sur.*, 2018).

Istraživanja su pokazala kako je pridržavanje različitim prehrambenim obrascima povezano sa specifičnim profilima sastava CM (WU *i sur.*, 2011). Prema pojedinim autorima opisuju se takozvana tri enterotipa kojima ovisno o tipu dominiraju tri različiti bakterijska roda: *Bacteroides, Prevotella* te *Ruminococcus* (ARUMUGAM *i sur.*, 2011). Enterotip 1, povezan s rodom *Bacteroides* veže se uz obilan unos životinjskih namirnica, posebice proteina. Enterotip 2, povezan s rodom *Prevotella* tipičan je osobe koje prakticiraju vegetarijansku i vegansku prehranu, odnosno obilato unose biljne namirnice bogate vlaknima. Enterotip 3, povezan s rodom *Ruminococcus* učestao je kod osoba čija se prehrana temelji na unosu žitarica i škrobastih namirnica. Zanimljivo je kako je pojavnost ovih enterotipova neovisna o spolu, dobi i etničkoj pripadnosti. No, mnoga druga istraživanja ukazuju kako je podjela na tri enterotipa pojednostavljenje problematike sastava CM, zbog čega se danas smatra kako se ne radi o tri enterotipa, već o stupnjevitim interindividualnim razlikama po pitanju sastava CM (KNIGHTS *i sur.*, 2014).

2.3.1. Učinak prehrane na sastav CM

Različiti prehrambeni obrasci povezani su s različitim konfiguracijama sastava CM. Iako nemamo podatke za športaše, rezultati istraživanja dobiveni na istraživanjima na životinjskim modelima i skupinama ispitanika daju vrijedan uvid u potencijal modulacije sastava CM kroz pridržavanje različitim obrascima/oblicima prehrane (BEAM *i sur.*, 2021; PURDEL *i sur.*, 2023).

Prehrana bazirana na biljnim namirnicama, („plant-based“) sadrži visoki unos biljnih tvari, konkretno vlakana, polifenola i drugih fitokemikalija kao što su primjerice biljni alkaloidi (ROGERSON, 2017). Ovi oblici prehrane u povezani su s enterotipom kojim dominira rod *Prevotella*. Studije na populacijama koje se hrane na ovaj način, kao što su stanovnici afričkih zemalja, su pokazale kako je njihova CM obilježena povećanom α-raznolikošću, povećanim udjelima koljena Bacteroidetes i rodova *Prevotella, Xylanibacter, Alloprevotella, Anaerostipes, Blautia Phascolarctobacterium, Coprococcus, Lachnospiraceae* kao i povećanom proizvodnjom metabolita nastalih fermentacijom vlakana i drugih ugljikohidrata iz biljnih namirnica, primjerice kratkolančanih masnih kiselina (SEEL *i sur.*, 2023; SIDHU *i sur.*, 2023). S druge strane su smanjeni udjeli koljena Firmicutes te obitelji *Porphyromonaceae* te Erysipelotrichaceae. Posebice u usporedbi s populacijama koje se hrane konvencionalnim načinom, odnosno modernom, zapadnjačkom prehranom. Povoljni učinci ovog oblika prehrane dokazani su i kod pacijenata oboljelih od pretilosti i drugih metaboličkih poremećaja, kardiovaskularnih i autoimunih bolesti (THOMAS *i sur.*, 2023). Iako su potrebna daljnja

istraživanja, danas se smatra kako različiti oblici prehrane bazirane na biljnim namirnicama, kao što su vegetarijanska i veganska, svoje blagotvorne zdravstvene učinke ostvaruju upravo preko promjena koje izazivaju po pitanju sastava i aktivnosti CM (BARNARD *i sur.*, 2019).

Bezglutenska prehrana je ključni dijetoterapeutski pristup u liječenju celijakije, alergije na pšenicu i netolerancije na gluten (CAMPANIELLO *i sur.*, 2022). No, dana se bezglutenska prehrana samoinicijativno ili na preporuku stručnjaka primjenjuje i u okviru drugih bolesti i poremećaja, pa čak i zdravih pojedinaca. Bezglutenska prehrana povezana je sa smanjenim unosom vlakana, određenih minerala i vitamina (kalcij, magnezij, cink, vitamin B12, D i folat). Po pitanju crijevnog mikrobioma su dvije studije pokazale kako je provedba bezglutenske prehrane povezana s smanjenjem relativnih udjela rodova *Lactobacillus, Bifidobacterium* i *Roseburia* i posljedično smanjenom mikrobnom proizvodnjom laktata, ali povećanjem obitelji *Enterobacteriaceae, Clostridiaceae* i *Victivallaceae* kao i roda *Escherichia coli* (DE PALMA *i sur.*, 2009; BONDER *i sur.*, 2016). Stoga se zbog štetnih posljedica po CM bezglutenska prehrana kod športaša preporuča samo u sklopu liječenja gore navedenih poremećaja.

Ketogena prehrana je definirana kao oblik prehrane s visokim unosom masti (oko 90% dnevnog unosa kalorija) i niskim unosom ugljikohidrata (5-10% dnevnog unosa kalorija) kako bi se potaknuo metabolizam masti, odnosno ketogeneza, proizvodnja ketonskih tijela (WHITNEY i NAIR, 2021). Ketonska tijela su izvor energije za kolonocite, potiču protuupalnu i antioksidativnu aktivnost, imunosnu regulaciju, crijevnu peristaltiku i jačaju crijevnu barijeru. Ketogena prehrana se koristi u liječenju nekoliko neuroloških bolesti, epilepsije, depresije i neurodegenerativnih bolesti. Pored tog ketogena prehrana ima pozitivne učinke na inzulinsku rezistenciju i druge metaboličke poremećaje. No, pozitivni učinci ketogene prehrane na sportsku izvedbu nisu potvrđeni znanstvenim dokazima, štoviše neki izvori čak tvrde kako djeluje štetno (THOMAS *i sur.*, 2016; FRITZEN *i sur.*, 2019; BAILEY i HENNESSY, 2020; MURPHY *i sur.*, 2021; KOERICH *i sur.*, 2023).

Glavna odlika ketogene prehrane je restrikcija, odnosno eliminacija unosa ugljikohidrata. Ugljikohidrati su makronutrijenti koji se mogu podijeliti na probavljive, koji se metaboliziraju u tankom crijevu enzimatskom razgradnjom, i neprobavljive, koji bivaju fermentirani od strane CM u debelom crijevu. Ugljikohidrati zauzimaju važnu ulogu u prehrani športaša zato što su lako probavljiv i obilan izvor energije što je ključ za homeostazu glukoze, samu sportsku izvedbu te oporavak organizma (JEUKENDRUP, 2004, 2014). No, pokazalo se kako prehrana bogata probavljivim ugljikohidratima, a siromašna neprobavljivim vlaknima ima negativne

učinke na CM: dolazi do smanjenja raznolikosti, narušavanja crijevne barijere te smanjenju proizvodnje SCFA zbog gubitka bakterija iz rodova *Bacteroides, Bifidobacterium, Propriobacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Clostridiales, Roseburia* i *Prevotella* (PAYNE *i sur.*, 2012; HOLSCHER, 2017; LEBLANC *i sur.*, 2017; DI RIENZI i BRITTON, 2020). SCFA su ključne za aerobnu sportsku izvedbu, kada u nedostatku glikogena iz tjelesnih skladišta, one mogu biti oksidirane u skeletnom mišiću i time povećati biodostupnost masnih kiselina, glukoze i glikogena (GASTIN, 2001; HUGHES, 2019). Zato je bitno pomno planirati unos ugljikohidrata, razmišljajući istovremeno o benefitima po pitanju energetskog unosa, ali i učinku na CM.

Glavnina energetskog unosa se u ketogenoj prehrani odvija kroz unos masti, zbog čega se često rabi i naziv „low-carbohydrate high-fat" (LCHF) za ovaj oblik prehrambene intervencije (BAILEY i HENNESSY, 2020). Masti su ključne u prehrani športaša zbog svoje uloge u izgradnji staničnih membrana, apsorpciji vitamina topivih u masti ali i kao bogat izvor energije, pogotovo u sportovima izdržljivosti (THOMAS *i sur.*, 2016**).** Povećan unos masti značajno oblikuje CM: generalno smanjuje udjele *Lactobacillus,* a povećava udjele *Clostridiales, Bacteroides* i *Enterobacteriales* (NEU *i sur.*, 2021). No, nemaju svi tipovi masti isti učinak: zasićene masti više povećavaju udjele *Bacteroides, Bilophila, Faecalibacterium prausnitzii* te proizvodnju LPS u usporedbi s nezasićenim mastima, dok one pak povećavaju udjele *Streptococcus, Lactobacillus, Bifidobacterium* i *Akkermansia muciniphila* (NEU *i sur.*, 2021). Najbolje učinke na CM imaju omega-3 nezasićene masti zato što povećavaju proizvodnju SCFA, cjelovitost crijevne barijere i pozitivno utječu na os crijevo-mozak (DE VADDER *i sur.*, 2014; COSTANTINI *i sur.*, 2017). Zbog toga se one smatraju čak i prebioticima (VIJAY *i sur.*, 2021; RINNINELLA i COSTANTINI, 2022)**.** Povećan unos masti problematičan je po CM zbog promjene u enterohepatičnoj cirkulaciji žučnih soli, koja može rezultirali kiselim miljem crijeva koji može djelovati antimikrobno (ISLAM *i sur.*, 2011). No, isto tako sekundarne žučni soli, koje su metaboliti CM poboljšavaju apsorpciju energije i kisika zbog povećanja oksidativne fosforilacije i beta-oksidacije masnih kiselina čime se smanjuje osjećaj umora kod športaša (CLARK i MACH, 2017). Upravo zbog tog je uloga CM ključna u metabolizmu masti kod športaša, odnosno adekvatan unos odgovarajućih tipova masti može pozitivno utjecati na sastav CM, što će se pak pozitivno odraziti na energetski metabolizam prilikom sportske izvedbe.

Ketogena prehrana značajno utječe na sastav CM, što je dokazano na životinjskom modelu i ljudima. Ketogena prehrana može smanjiti α-raznolikost. Na razini koljena povećava udjele koljena Bacteroidetes, a smanjuje one koljena Firmicutes, Proteobacteria i Actinobacteria. Na razini rodova povećava udjele *Lactobacillus, Bacteroides, Parabacteroides, Prevotella, Slackia*

te vrste *Akkermansia muciniphila*, te smanjuje udjele *Turicibacter, Desulfovibrio, Bifidobacterium, Lachnobacterium, Agathobacter,* i *Dialister* (LIM *i sur.*, 2022). Treba napomenuti kako naveden promjene detektirane po primjeni ketogenoj prehrani nisu viđene u svim istraživanjima, zbog čega su potreban dodatna istraživanja kako bi se jednoznačno definirao učinak ketogene prehrane na CM. Provedeno je jedno istraživanje na športašima gdje je kao nutritivna intervencija korištena ketogena Mediteranska prehrana, ali ona nije rezultirala značajnijim promjenama u CM (MANCIN *i sur.*, 2022).

Prehrana bazirana na životinjskim namirnicama obilježena je visokim unosom dviju skupina nutrijenata: životinjskih proteina te životinjskih masti, ponajviše zasićenih. Ove dvije skupinu različito mijenjaju sastav CM. Bitno je naglasiti kako su podaci u nastavku dobiveni iz istraživanja na životinjama i ljudima. Ovaj oblik je relativno neistražen u usporedbi s drugima jer je iznimno teško proučiti učinke životinjskih proteina i masti zbog njihove biokemijske složenosti (LEE *i sur.*, 2023). Sudeći po literaturi, prehrana bazirana na životinjskim namirnicama povećava udjele koljena Firmicutes i Proteobacteria, a smanjuje one Bacteroidetes. Uz to potiče rast bakterija koje toleriraju žuč kao što su *Bacteroides, Alistipes* te *Bilophila.* S druge strane se vidi smanjenje udjela obitelji *Lachnospiraceae* i rodova koje proizvode laktat, *Lactobacillus* te kratkolančane masne kiseline: *Roseburia, Agathobacter, Enterococcus, Ruminococcus* (BEAM *i sur.*, 2021). Iako se često ovaj oblik prehrane povezuje sa štetnim posljedicama po mikrobiom, smatra se kako se zapravo radi samo o nedostatku literature na ovu temu zbog složenosti područja koji će potencijalno u budućnosti biti smanjen.

2.3.2. Utjecaj unosa soli na sastav crijevnog mikrobioma

Unos soli, NaCl-a, pogotovo prekomjerni značajno utječe na sastav CM (SMILJANEC i LENNON, 2019). Prekomjerni unos soli ima štetne učinke na razine metabolita CM. Tako prekomjeran unos soli povećava apsorpciju butirata od strane kolonocita zbog čega dolazi do smanjenja razina butirata unutar lumena crijeva. Zbog fenomena „cross-feeding"-a će se intraluminalni manjak butirata očitovati i smanjenjem proizvodnje laktata jer butirat predstavlja supstrat za proizvodnju laktata. No, prekomjeran unos soli, više od 5,5 g dnevno u trajanju od dva tjedna primjerice, izaziva i značajne taksonomske promjene. Bakterije različito reagiraju na sol. Uslijed prekomjernog unosa soli dolazi do gubitka bakterija koje ne toleriraju sol kao što je rod *Lactobacillus* (čak 90% nakon 14 dana), što su potvrdila istraživanja na ljudima i životinjama (WILCK *i sur.*, 2017). No, s druge strane postoje i rodovi bakterija čiji će relativni udjeli porasti

zbog povećanog unosa soli kao što su *Alistipes, Oscillobacter, Oscillospira* i *Parasutterella* (WANG *i sur.*, 2017).

2.3.3. Utjecaj suplementacije na sastav CM

Športaši redovito koriste dodatke prehrani, samoinicijativno ili na preporuku stručnjaka. Najčešće se koriste proteini, iz sirutke ili biljnog porijekla te kreatin. Pregledom literature nisu pronađeni radovi koji su istraživali utjecaj kreatina na sastav CM. No, poznato je kako kreatin ima pozitivne učinke na integritet crijevne barijere (MUELLER *i sur.*, 2018), zbog čega se pretpostavlja kako ima i blagotvorne učinke a CM.

U prehrani športaša unos proteina je od velike važnosti. Trenažni proces i adaptacija tijela istom povezana je s povećanom nutritivnom potrebom za proteinima zbog intenzivnije sinteze proteina u mišićnom tkivu, ali i na crijevnoj barijeri (KÅRLUND *i sur.*, 2019; MOORE, 2019; CHURCHWARD-VENNE *i sur.*, 2020). CM je uključen u više aspekata metabolizma proteina. Oko 10% unesenih proteina se ne probavlja enzimatskom razgradnjom u tankom crijevu već biva fermentirano od strane CM (MACFARLANE *i sur.*, 1988; PORTUNE *i sur.*, 2016), čime se proizvode SCFA te razgranate aminokiseline (BCAA) s pozitivnim implikacijama po cjelovitost crijevne barijere ali i sportsku izvedbu (BLACHIER *i sur.*, 2019; DIETHER i WILLING, 2019). No, CM utječe i na endogenu proteolizu domaćina tako što proizvode petpidaze i proteinaze koje djeluju sinergistički s onima koje proizvodi domaćin (DAVILA *i sur.*, 2013; GARCIA-GUTIERREZ *i sur.*, 2019). CM također utječe i na anabolizam i funkcionalnost mišićnog tkiva putem osi crijevo-mišić (BINDELS i DELZENNE, 2013; NAY *i sur.*, 2019; TICINESI *i sur.*, 2019; HAWLEY, 2020). Zanimljivo je kako unos proteina pozitivno korelira s mikrobnom raznolikošću u nekim istraživanjima (CLARKE *i sur.*, 2014; NEU *i sur.*, 2021), ali je i viđeno kako je unos proteina i raznolikost bila obrnuto proporcionalna (JANG *i sur.*, 2019a). U literaturi se navodi kako je potrebno uzeti u obzir prati li unos vlakana povećan unos proteina (CLARKE *i sur.*, 2014; JANG *i sur.*, 2019b).

S obzirom na povećane nutritivne potrebe za proteinima kod športaša, oni često pribjegavaju suplementaciji proteinima, iako se generalno smatra kako unos protein iz cjelovitih namirnica ima isti, pa čak i veći ergogeni učinak nego onaj iz suplementacije (ELLIOT *i sur.*, 2006; VAN VLIET *i sur.*, 2017). Protein u suplementaciji može biti iz životinjskih (sirutka) i biljnih izvora (soja, grašak, riža). Istraživanja na zdravim pojedincima su pokazala kako učinak suplementacije proteinima na CM ovisi o njihovom izvoru (LANG *i sur.*, 2018): životinjski

proteini povećavaju relativne udjele rodova *Bacteroides, Alistipes, Bilophila* i *Ruminococcus* te snižavaju udjele roda *Bifidobacterium* i proizvodnju SCFA u usporedbi s biljnim proteinima, koji pak povećavaju udjele roda *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* te snižavaju udjele *Bacteroides* i *Clostridioides.* Neki autori čak tvrde kako životinjski proteini imaju negativan učinak na CM zbog proizvodnje potencijalno štetnih proteolitičkih metabolita (DE FILIPPO *i sur.*, 2010). Pored vrste proteina, bitna je i njegova količina: prekomjeran unos proteina upravo zbog ovih proteolitičkih metabolita (amonijak, biogeni amini, indoli, fenoli) može imati štetne učinke na crijevnu barijeru i usporedno tome i proupalni odgovor (PORTUNE *i sur.*, 2016; YAO *i sur.*, 2016; MADSEN *i sur.*, 2017; BLACHIER *i sur.*, 2019; DIETHER i WILLING, 2019; OLIPHANT i ALLEN-VERCOE, 2019)

Kod športaša je učinak suplementacije proteinima na CM istražena je samo u jednoj studiji iz 2018. godine (MORENO-PÉREZ *i sur.*, 2018). Rezultati su pokazali kako suplementacija proteinima sirutke povećava udjel roda *Bacteroides,* a smanjuje udjele rodova *Roseburia, Blautia* i *Bifidobacterium*. Značajne rezultate imalo je i presječno istraživanje koje se bavilo razlikama u sastavu CM bodybuildera koji jesu i nisu koristili proteinsku suplementaciju (BYERLEY *i sur.*, 2022). Zaključak je kako proteinska suplementacija definitivno mijenja aktivnost u smislu poticanja metabolizma aminokiselina, ali i sastav CM u različitim razmjerima ovisno o drugim čimbenicima. Najbitnije je kod primjene proteinske suplementacije osigurati adekvatan unos vlakana jer se na taj način garantira kako se CM neće drastično prebaciti sa saharolitične na proteolitičnu aktivnost. Kod pojedinaca koji konzumiraju veće količine proteina, one neće biti povezane sa štetnim učincima na CM ukoliko oni konzumiraju i adekvatne količine vlakana (SZURKOWSKA *i sur.*, 2021). S obzirom na CM preporuka je primjena probiotika, primjerice *Bacillus coagulans* uz proteinsku suplementaciju, zbog mogućnosti smanjenja proupalnog odgovora, poboljšanja apsorpcije nutrijenata te povećane proizvodnje proteaza koje potpomažu apsorpciju aminokiselina (JÄGER *i sur.*, 2018, 2020; STECKER *i sur.*, 2020). Tako probiotik primijenjen paralelno uz suplementaciju proteinima može smanjiti oštećenje mišića i poboljšati proces oporavka, a time poboljšati i sportsku izvedbu.

Športaši pored proteina često suplementiraju i mikronutrijente, vitamine i minerale. Mikronutrijenti su ključni u fiziologiji imunosnog sustava, metabolizma ali i koštanog, mišićnog i živčanog sustava (GLEESON *i sur.*, 2004). Mikronutrijenti su ključni za zdravlje športaša jer su njihove potrebe za njima povećane zbog redovitog i intenzivnog fizičkog napora,

znojenja te povišenog oksidativnog stresa (CLARKSON, 1995; GLEESON *i sur.*, 2004). No, mikronutrijenti su iznimno važni i za CM.

Vitamini su kemijski spojevi koji funkcioniraju kao kofaktori za enzime (KHO i LAL, 2018). Suplementacija vitaminima može mijenjati CM zato što se samo male količine istih apsorbiraju u gornjem probavnom sustavu (YANG *i sur.*, 2020a). Za CM športaša od velike važnosti su antioksidativni enzimi, kao što su vitamin C i E, te antioksidativni, ali i protuupalni vitamin D (DONATI ZEPPA *i sur.*, 2019), kako bi se smanjile posljedice oksidativnog stresa proizašlog iz trenažnog procesa, te potaknulo adekvatno funkcioniranje imunosnog sustava. Istraživanja su pokazala kako je primjena vitamina C i E povezana sa smanjenjem slobodnih radikala te porastom udjela *Bifidobacterium* i *Escherichia*, i smanjenjem udjela *Escherichia coli* (XU *i sur.*, 2014). Primjena vitamina D je pak u istraživanjima povezivana s porastom udjela *Bacteroides* i *Akkermansia*, smanjenjem omjera Firmicutes/Bacteroidetes i udjela *Faecalibacterium* i *Ruminococcaceae* (SINGH *i sur.*, 2020). Smatra se kako apsorpcija vitamina D u crijevima ovisi o sastavu CM (SINGH *i sur.*, 2020).

2.3.4. Utjecaj prehrambenih aditiva na CM

Športaši su često izloženi namirnicama koje sadrže prehrambene aditive. Redovita konzumacija energetskih napitaka i pločica, pripravaka za brzu nadoknadu elektrolita i drugih procesuiranih namirnica tipičnih za sportsku prehranu povezana je neminovno s unosom prehrambenih aditiva. Generalno je većina prehrambenih aditiva, od umjetnih zaslađivača do emulgatora i zgušnjivača povezana s negativnim učincima na sastav CM. Ovo djelovanje je uglavnom potvrđeno na istraživanjima na životinjskim modelima. Tipični primjeri su umjetni zaslađivači kao što su sukraloza (E955), saharin (E954) te aspartam (E951), nenutritivni zaslađivači s nikakvim ili minimalnim brojem kalorija. Ova tri zaslađivača dovode do povećanje broja bakterija iz obitelji *Clostridiales, Enterobacteriaceae* te rodova *Bacteroides* i *Clostridium.* Ove promjene mikrobioma dovode do povećane glukoneogeneze u jetri kuda dospijevaju metaboliti ovih zaslađivača po konverziji u propionat. Zato je unos umjetnih zaslađivača kod životinja povezan s razvojem intolerancije na glukozu, oštećenja jetre te drugih negativnih metaboličkih učinaka. No, bitno je napomenuti kako kod ljudi nisu utvrđene doze koje bi dovele do promjena CM. Bitno je napomenuti kako neki prirodni zaslađivači, kao što su šećerni alkoholi iz voća kao što su sorbitol čak imaju prebiotsko djelovanje jer je on izvor ugljika za bakterije kao što su *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*.

2.3.5. Učinak probiotika na CM športaša

Probiotici su živi mikroorganizmi s pozitivnim zdravstvenim učincima (HILL *i sur.*, 2014). CM se može personalizirati kroz primjenu probiotika. Sustavni pregled randomiziranih kliničkih studija na športašima iz 2023. pokazao je kako primjena formulacija probiotika s jednim ili više sojeva može poboljšati sportsku izvedbu kao i neke njezine elemente kao što su izdržljivost, snaga i oporavak, ali i tjelesne stavke povezane s njom kao što su bolnost mišića i sastav tijela (DI DIO *i sur.*, 2023).

Međunarodni olimpijski odbor izjavio je kako unos probiotika tijekom nekoliko tjedana povećava udjele blagotvornih bakterija unutar crijeva što ima pozitivne posljedice na zdravlje crijeva i imunost (MAUGHAN *i sur.*, 2018). Upravo je poboljšanje imunosnih funkcija jedan od glavnih razloga primjene probiotika kod športaša. Bavljenje sportom povezano je s povećanim zahtjevima tijela na imunosni sustav, zbog čega dolazi po povećanja incidencije infekcija respiratornog sustava (WALSH *i sur.*, 2015) i probavnih tegoba (CAMILLERI, 2019). Zato je visoko funkcionalan imunitet ključan za športaša: izostanak s treninga ili natjecanja zbog infekcije ili probavnih tegoba kobno je za karijeru športaša. Stanje CM-e je važno za sveukupni imunitet športaša jer je otprilike 70% svih imunosnih stanica funkcionalno povezano s GALT, gdje urođeni stanični imunitet dolazi u kontakt s CM (SWIATCZAK *i sur.*, 2011; HOOPER *i sur.*, 2012). Primjena probiotika kod športaša je manje istražena nego kod različitih zdravstvenih stanja (PYNE *i sur.*, 2015). Smatra se kako generalno probiotici posjeduju višestruke mehanizme djelovanja pri primjeni kod športaša (JÄGER *i sur.*, 2019) (Tablica 3).

Tablica 3: Mehanizmi djelovanja probiotika kod športaša

Glavni mehanizam djelovanja	**Podmehanizmi**		**Reference**
imunomodulacija (KLAENHAMMER *i sur.*, 2012)	aktivnost makrofaga↑		(PAGNINI *i sur.*, 2010)
	interakcija s Tl receptorima	ekspresija NF-κB↓	(GÓMEZ-LLORENTE *i sur.*, 2010)
		proupalni citokini↓	(GÓMEZ-LLORENTE *i sur.*, 2010)

	protuupalni citokini (IL-10) ↑	(HUANG *i sur.*, 2019b)
	imunoglobulini (IgA) ↑	(JÄGER *i sur.*, 2016; AZAD *i sur.*, 2018; ZHANG *i sur.*, 2018)
	proliferacija i aktivacija T i B limfocita	(SASHIHARA *i sur.*, 2013; AGHAEE *i sur.*, 2014; SHIDA *i sur.*, 2017)
	proizvodnja proupalnih citokina od strane T-stanica↓	(CLANCY *i sur.*, 2006)
	aktivnost NK stanica↓	(SHIDA *i sur.*, 2017)
jačanje crijevne barijere (SHING *i sur.*, 2014)	ekspresija gena za stvaranje čvrstih veza↑	(ANDERSON *i sur.*, 2010)
kolonizacijska otpornost ↑	adhezija patogena na biofilm↓	(SERVIN, 2004)
	kompeticija za receptore↑	(VELRAEDS *i sur.*, 1998)
	kompeticija za nutrijente ↑	(VIECO-SAIZ *i sur.*, 2019)
	lučenje bakteriocina	(ŠUŠKOVIĆ *i sur.*, 2010)
proizvodnja metabolita	SCFA vitamini antioksidansi	(MARTARELLI *i sur.*, 2011)

Kod športaša je dokazano djelovanje različitih sojeva s različitim mehanizmima djelovanja (Tablica 4).

Tablica 4: Mehanizmi djelovanja sojeva dokazani kod športaša

Mehanizam	**Soj**	**Referenca**
imunomodulacija	*Lactobacillus fermentum* VRI-003	(COX *i sur.*, 2010)
	Lactobacillus casei Shirota	(GLEESON *i sur.*, 2011a; VAISBERG *i sur.*, 2019)
	Lactobacillus delbrueckii bulgaricus	
	Bifidobacterium bifidum	
	Streptococcus salivarius thermophilus	
	Bifidobacterium animalis subsp. *Lactis* BI-04	
	Lactobacillus helveticus Lafti L10	(MICHALICKOVA *i sur.*, 2016, 2017)
	formulacija *Bifidobacterium bifidum* W23, *Bifidobacterium lactis* W51, *Enterococcus faecium* W54, *Lactobacillus*	

		acidophilus W22, *Lactobacillus brevis* W63, *Lactobacillus lactis* W58	
jačanje crijevne barijere (NADATANI *i sur.*, 2018)	*Lactobacillus rhamnosus* GG		
	Lactobacillus salivarius UCC118		(BRENNAN *i sur.*, 2018)
	Formulacija	*Bifidobacterium bifidum* W23, *Bifidobacterium lactis* W51, *Enterococcus faecium* W54, *Lactobacillus acidophilus* W22, *Lactobacillus brevis* W63, *Lactobacillus lactis* W58	(LAMPRECHT *i sur.*, 2012)

Bitno je napomenuti kako je djelovanje probiotika ovisno o soju, odnosno njegovoj sposobnosti kolonizacije probavnog sustava, kliničkoj učinkovitosti kao i razmjeru učinka.
Pozitivne učinke probiotika na os crijevo-mozak odnosno poboljšanja psihičkog i mentalnog zdravlja kod športaša, a posljedično i na osjet stresa, anksioznost itd. potvrdilo je nekoliko istraživanja (DONG *i sur.*, 2021; SALLEH *i sur.*, 2021; ZHU *i sur.*, 2023).

Uspješna primjena probiotika u smislu prevencije infekcija i drugih zdravstvenih učinaka smanjuje upotrebu lijekova, posebice nesteroidnih protuupalnih lijekova. Pošto oni imaju štetne učinke po CM (MASEDA i RICCIOTTI, 2020), primjena probiotika potpomaže i očuvanju CM.

Bitno je napomenuti kako je istraživanje iz 2020. ukazalo na važnost uspostave adekvatnog nutritivnog unosa, posebice u pogledu unosa vlakana prije početka primjene probiotika. Ispitanici športaši koji nisu imali adekvatan unos vlakana u sklopu svoje visokoproteinske prehrane, nisu imali dobrotvorne učinke formulacije probiotika s više sojeva u pogledu modulacije sastava CM niti proizvodnje SCFA (SON *i sur.*, 2020).
Primjena probiotika kod aktivnih športaša je znanstveno dokazana s ciljem (SIVAMARUTHI *i sur.*, 2019; MARTTINEN *i sur.*, 2020): očuvanja zdravlje, prevencije bolesti, pogotovo infekcija probavnog i dišnog sustava (KEKKONEN *i sur.*, 2007; WEST *i sur.*, 2011; TAVARES-SILVA *i sur.*, 2021), suzbijanje posljedica pretreniranosti, smanjenja simptoma umora i evt. ergogenog učinka.

Kao što vrijedi i za druge dodatke prehrane, probiotike treba koristiti samo u sklopu uravnotežene, adekvatne prehrane. „Food first" pristup u prehrani je športaša je ključ zbog čega je potrebno pažljivo evaluirati ideju primjene probiotika. Pritom se treba uzimati u obzir i mogućnost unosa probiotika kroz fermentirane namirnice, koje pored probiotika sadrže i druge nutrijente koje su važne u prehrani športaša (NAKAMURA *i sur.*, 2012) za njihov CM kao što su vlakna (DONATI ZEPPA *i sur.*, 2019) i polifenoli (D'ANGELO, 2020; SORRENTI *i sur.*, 2020; HUGHES i HOLSCHER, 2021). Za dobrobiti fermentirane hrane se zna već stoljećima (ANUKAM i REID, 2007). Smatra se kako je najveći benefit unosa fermentiranih namirnica njihov učinak na proupalni odgovor i imunosni kapacitet (GABOON, 2011; TURNER *i sur.*, 2020). Primjeri fermentiranih namirnica koje se mogu koristiti kao kvalitetni i učinkoviti izvori probiotika kod športaša su (REDDY *i sur.*, 2018): mliječne fermentirane namirnice (kefir, jogurt), biljne fermentirane namirnice (kiseli kupus, kisela repa, kimchi, tempeh, natto), fermentirani napitci (kombucha, vodeni kefir).

Ukoliko se športaš ili njegov tim odluče na primjenu probiotika u obliku dodatka prehrane, ključno je informirati se o specifičnim svojstvima probiotika ili proizvoda koji sadrži probiotik kao što su način primjene, doziranje kao moguće nuspojave prije odluke o uzimanju probiotika (de Simone, 2019). Proizvodi mogu biti u obliku praha, kapsula ili tekućina.

Bitno je napomenuti kako se preporuča unos samo komercijalno dostupnih formulacija s probioticima provjerenih proizvođača kako bi se smanjila mogućnost unosa supstanci koje bi se sukladno regulacijama regulatornih tijela moglo detektirati kao doping. Pri odabiru

probiotika športaš ili član njegovog tima može se voditi podacima iz liste u sekciji 5.1 ili Tablici 1.

Preporuka je suplementaciju probioticima započeti minimalno 14 dana prije faze pripreme ili natjecanja. Ovaj vremenski period je potreban kako bi omogućila kolonizacija i adaptacija probiotika unutar CM. Ovaj period obilježen je prolaznim povećanjem aktivnosti unutar crijeva – fermentacija, stvaranje plinova, pojačan motilitet. Tijekom tog perioda moguć je razvoj probavnih tegoba kao što su nadutost, mučnina i proljev, koji dodatno mogu biti pogoršani putovanjima prije priprema ili natjecanja. O ovome športaš obavezno mora biti informiran kako bi se osigurala suradljivost prilikom primjene probiotika. Tolerancija i nuspojave moraju biti praćene od strane športaša samog, trenera te članova medicinskog tima te primjena prekinuta ukoliko dođe do razvoja zabrinjavajućih nuspojava. Zbog tog se savjetuje probiotik testirati van ili eventualno početkom sezone, kako bi športaš znao kako njegovo tijelo reagira na probiotik. Iako se primjena probiotika smatra generalno sigurnom (SANDERS *i sur.*, 2010; MERENSTEIN *i sur.*, 2023), razvoj nuspojava je moguć (BOYLE *i sur.*, 2006).

S obzirom na literaturu nije jasno koliko je potrebno unositi probiotik kako bi on ostvario svoj učinak. Većina intervencijskih istraživanje je provedena u trajanju od minimalno četiri do čak 16 tjedana (GLEESON *i sur.*, 2011a; LAMPRECHT i FRAUWALLNER, 2012; VÄLIMÄKI *i sur.*, 2012; WEST *i sur.*, 2012). Preporuka je nakon 3 mjeseca primjene probiotika procijeniti zajedno sa športašem i zdravstvenim timom (liječnik, nutricionist) da li je došlo do pozitivnog ishoda koji bi pravdao nastavak primjene istog (NOLTE *i sur.*, 2023).

Što se tiče doze, preporuča se unos proizvoda koji sadrži koncentracije 10^8-10^9 CFU (živih jedinica mikroorganizama) po dozi (kapsuli, tableti, količini praha) (BOYLSTON *i sur.*, 2004). Iako nemamo preporuke za športaše utemeljene na znanstvenim dokazima, gore navedena doza odgovara količinama korištenim u istraživanjima na športašima u kojima su viđeni pozitivni učinci.

Nije poznato koje je optimalno vrijeme uzimanja probiotika. Istraživanja su provedena na in vitro modelima gornjeg probavnog sustava koji ukazuju kako je preživljavanje probiotika veće kad su oni uneseni 30 minuta prije obroka u kombinaciji s mlijekom (kravljim, zobenim) nego 30 minuta poslije u kombinaciji sa sokovima (TOMPKINS *i sur.*, 2011). Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se potvrdile ove hipoteze, no športašima se preporuča pridržavati se ova dva pravila kod tempiranja unosa, uz naravno prilagodbu životnim navikama i preferencijama samog športaša.

Istraživanja o potencijalnom ergogenom učinku probiotika ima manje nego po pitanju drugih potencijalnih svrha upotrebe (COQUEIRO *i sur.*, 2017). U 28 pregledanih istraživanja na ovu temu (CARBUHN *i sur.*, 2018) , samo ih je 10 potvrdilo pozitivan učinak suplementacije probioticima na sportsku izvedbu (Tablica 1). Ergogeni učinak opisan je uglavnom u aerobnim sportovima , kao što su triatlon i trčanje na duge pruge, tek manje u ekipnim sportovima, kao što su badminton, obojka i nogomet (WIĄCEK i KAROLKIEWICZ, 2023). Ovi učinci su ostvareni kod aerobnih sportova kroz povećanje aerobnog kapaciteta (VO_2 max) i time izdržljivosti, a kod ekipnih čini se kroz promjene sastava tijela u smislu povećanja udjela mišićnog tkiva, a time i snage. Smatra se kako probiotici ergogene učinke ostvaruju indirektno, ponajviše kroz imunomodulaciju i lučenje metabolita s utjecajem na regulaciju metabolizmu i sastava tijela. No, potreban je velik broj dodatnih istraživanja kako bi se potvrdila promatranja iz ovih prvih randomiziranih studija na ovu temu (COSTA *i sur.*, 2022).

Tablica 5: Lista sojeva probiotika s dokazanim učincima na športašima s obzirom na sport i duljinu primjene (Prilagođeno po Di Dio i sur., 2023)

Soj i referenca	**Vrsta sporta**	**Primjena**	**Učinak**
Lactobacillus casei Shirota (SALLEH *i sur.*, 2021)	badminton	6 tjedana	aerobna sposobnost↑ osjećaj stresa↓
Lactobacillus plantarum PS128 (HUANG *i sur.*, 2019b, 2020)	triatlon	3-4 tjedna	ergogeni učinak imunomodulacija
Lactobacillus plantarum TWK10 (HUANG *i sur.*, 2018)	trčanje	6 tjedana	izdržljivost aerobna sposobnost↑
Lactobacillus gasseri CP2305 (SAWADA *i sur.*, 2019)	atletika (trčanje)	12 tjedana	osjećaj umora↓
Lactococcus lactis JCM 5805 (postbiotik) (KOMANO *i sur.*, 2018)	više sportova	2 tjedna	osjećaj umora↓
Bacillus coagulans GBI-30 (JÄGER *i sur.*, 2018)	više sportova	3 tjedna	oporavak ↑

Bacillus subtilis DE111 (TOWNSEND *i sur.*, 2018; TOOHEY *i sur.*, 2020)	odbojka nogomet baseball	10-12 tjedana	sastav tijela ergogeni učinak
Bifidobacterium longum ssp. *longum* (LEE *i sur.*, 2019)	atletika	5 tjedana	ergogeni učinak
Bifidobacterium animalis BB-12 (DONG *i sur.*, 2021)	ronjenje	8 tjedana	ergogeni učinak (pod stresom) anksioznost↓
Bifidobacterium animalis BB-12 (ZHU *i sur.*, 2023)	taekwondo	8 tjedana	osjećaj psihološkog umora↓
Više sojeva (*Bifidobacterium, Streptococcus*) (SHING *i sur.*, 2014)	atletika	4 tjedna	oporavak ergogeni učinak
Više sojeva (*Lactobacillus, Bifidobacterium, Streptococcus*) (HARNETT *i sur.*, 2021)	rugby	17 tjedana	bol u mišićima↓ motivacija↑
Više sojeva (*Lactobacillus, Bifidobacterium, Lactococcus*) (SMARKUSZ-ZARZECKA *i sur.*, 2020)	atletika (trčanje) borilački sportovi	4,8,12 tjedana	VO_2 max↑ kapacitet trenažni↑ osjećaj umora↓ anaerobna sposobnost↑
Više sojeva (*Lactobacillus, Bifidobacterium, Enterococcus, Bacillus*) (SCHREIBER *i sur.*, 2021)	biciklizam	8 tjedana	osjećaj umora↓

Prebiotici su popularno često shvaćeni kao „hrana“ ili „gorivo“ za mikrobiom. U suvremenoj znanosti se pored vlakana kao prototipa prebiotika, danas često ubrajaju i nezasićeni masne kiseline, polifenoli i određeni biljni alkaloidi. Njima je svima zajedničko kako se radi o supstancama koje će selektivno poticati rast određenih članova CM (GIBSON *i sur.*, 2017), najčešće iz rodova *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, a tako povećati proizvodnju određenih metabolita, primjerice SCFA, i ojačati crijevnu barijeru. Zbog selektivne fermentacije unutar

CM i gore navedenih učinaka unos prebiotika pozitivno će utjecati na skladištenje glikogena i metabolizma, ali i smanjivanje probavnih tegoba povezanih s intenzivnom tjelovježbom. No, to je hipoteza konstruirana na temelju spoznaja o prebioticima iz istraživanja na drugim populacijama, kao što su pretile osobe i pacijenti s drugim poremećajima metabolizma (DAVANI-DAVARI *i sur.*, 2019). U znanosti, kao i na tržištu dodataka prehrani, danas su najpopularniji inulin, fruktooligosaharidi (FOS), galaktooligosaharidi (GOS) te laktuloza. Iako postoji više istraživanja koji se bave utjecajem prebiotika na životinjskim modelima fizički aktivnih osoba, u literaturi postoji samo pet istraživanja koja su se bavili prebioticima i njihovim utjecajem na zdravlje športaša, s time da su u četiri istraživanja korištene formulacije koje sadrže prebiotike u kombinaciji s probioticima (ZHANG *i sur.*, 2023). Ovakve formulacije nazivamo sinbioticima (DE VRESE i SCHREZENMEIR, 2008). Primjer istraživanja sa sinbioticima na športašima: istraživanje koje je koristilo formulaciju s više sojeva probiotika, FOS i alfa-lipoičnom kiselinu pokazalo je smanjenje razina endotoksina za skoro 50% i blago poboljšanje vremenskog rezultata triatlonaca (ROBERTS *i sur.*, 2016). Istraživanja s prebioticima na športašima su provedena s prototipnim prebioticima, ugljikohidratnim polimerima. No, zbog svog prebiotskog potencijala športašima se preporuča i adekvatan unos polifenola (SORRENTI *i sur.*, 2020), makar ne postoje istraživanja u literaturi koja specifično istražuju prebiotski učinak polifenola kod športaša. Većina probiotika dostupnih na tržištu, bilo u prehrambenim proizvodima bilo u dodacima prehrani, obogaćeno je prebioticima (npr. inulin). Zbog će športaš koji se odluči na unos probiotika često konzumirati zapravo sinbiotik. Ukoliko postoji želja ili potreba športaša za unosom isključivo prebiotika bitno je konzultirati nutricionista ili liječnika koji se pri odabiru prebiotika mora voditi smjernicama za njihovu primjenu kod različitih zdravstvenih stanja (poremećaji metabolizma, imunomodulacija, probavne tegobe).

Najnoviji pojam u području modulacije CM su takozvani postbiotici (SALMINEN *i sur.*, 2021b). Postbiotici se popularno nazivaju i „probiotici duhovi“, jer se zapravo radi o inaktiviranim, probioticima (SALEH *i sur.*, 2023). Istraživanja su pokazala kako primjena formulacija koje sadrže ključne strukture ili frakcije probiotskih stanica mogu imati slične učinke kao i sami živi probiotici (AGUILAR-TOALÁ *i sur.*, 2018). Postbiotici imaju imunomodulatorno djelovanje (TAVERNITI i GUGLIELMETTI, 2011) i potiču cjelovitost crijevne membrane (WANG *i sur.*, 2023). Na športašima su dosad provedena tri istraživanja. Korištene su komponente probiotika *L. gasseri* CP2305 i *L. lactis* JCM 5805 i dokazano je smanjenje trajanja infekcija gornjeg dišnog sustava i smanjenje osjećaja umora (KOMANO *i sur.*, 2018, 2023) . Pošto su probiotici tek unatrag nekoliko godina postali područje istraživanja, relativno je manji broj istraživanja.

No, očekuje se veliki uzlet po pitanju primjene i istraživanja postbiotika u budućnosti (TSILINGIRI i RESCIGNO, 2013). Ponajviše u kontekstu primjene fermentiranih namirnica kod športaša jer su one prirodno bogate postbioticima, pošto su probiotici koji su inicijalno prisutni fermentacijom inaktivirani toplinom (pasterizacija, kuhanje) ili drugim metodama obrade namirnica. Bitno je napomenuti kako se metaboliti probiotika, kao što su kratkolančane masne kiseline ne ubrajaju u postbiotike, već ih se naziva jednostavno metaboliti ili metabiotici (SHENDEROV, 2013).

2.3.6. Utjecaj unosa fermentirane hrane

Međunarodno znanstveno udruženje za probiotike i prebiotike (ISAPP) definira fermentiranu hranu kao „hranu proizvedenu uz pomoć kontroliranog rasta mikroorganizama te enzimatsku pregradnju komponenti hrane“ (MARCO *i sur.*, 2021). Fermentacija je biokemijski proces u kojem mikroorganizmi kao što su bakterije, kvasci ili plijesni metaboliziraju organske spojeve iz namirnice, obično šećere i škrobove, generalno pod anaerobnim uvjetima, u različite derivate koji poboljšavaju nutritivna, organoleptička i tehnološka svojstva namirnice (CHILTON *i sur.*, 2015). Glavna prednost fermentacije u proizvodnji hrane je produživanje roka trajanja namirnice, jer se akumulacijom alkohola i organskih kiselina te sniženjem pH vrijednosti inhibira kako rast patogenih mikroorganizama kao to su *Listeria monocytogenes* i *Salmonella typhimurium* (YE *i sur.*, 2021) tako i enzimatska aktivnost unutar supstrata zbog čega se smanjuje rizik truljenja namirnice (LEEUWENDAAL *i sur.*, 2022). Svrha fermentacije iz perspektive mikroorganizama je proizvodnja energije (WANG *i sur.*, 2021). Postoji različiti tipovi fermentacije ovisno o tome koje su biokemijske reakcije uključene u proces. Razlikujemo primarne fermentacije kad mikroorganizmi neposredno metaboliziraju supstrate dostupne u ishodišnoj sirovini, i sekundarne fermentacije kad mikroorganizmi metaboliziraju metabolite proizašle iz primarne fermentacije. Tako postoje primarni tipovi kao što su laktički tip fermentacije, citrična, maslačna i alkoholna fermentacija, te sekundarni tipovi kao što su octena malolaktična, i propionska fermentacija (Tablica 6).

Tablica 6: Tipovi fermentacije (prilagođeno po Voidarou i sur., 2020)

Mikroorganizmi	**Supstrati**	**Metaboliti**	**Namirnice**
Primarne			

Mliječna	*Lactobacillaceae, Leuconostocceae, Streptococcaceae*	šećer	Homolaktična: laktat; Heterolaktična: laktat, etanol, CO_2	mliječne: jogurt, kefir, sirevi biljne: kiseli kupus, kimchi, tempeh mesne: kobasice
Alkoholna	*Saccharomyces* spp., *Kloeckera* spp., *Zymomonas mobilis*	šećer	etanol, CO_2	vino, pivo, kefir
Citrična	*Leuconostoc* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp.,	citrat	acetat, format, etanol, 2,3-butanediol, diacetil, acetoin, laktat, CO_2	kombucha, pivo, kiseli krastavci, prehrambena industrija
Sekundarne				
Malolaktična	*Oenococcus oeni, Lactobacillaceae, Pediococcus*	malat	laktat, CO_2	vino, ocat, sirevi
Octena	*Acetobacter* spp., *Gluconoacetobacter, Gluconobacter*	etanol	acetat, EPS	kakao, kava, ocat, vodeni kefir, kiselo pivo
Propionska	*Propionibacterium* spp.	laktat	propionat, acetat, CO_2, sukcinat	ementaler

Zbog široke upotrebe mliječna fermentacija je nedvojbeno najvažniji tip fermentacije u proizvodnji hrane. Ona je temelj proizvodnje fermentiranih mliječnih, mesnih te biljnih fermentiranih namirnica. Za ovaj tip fermentacije odgovorne su bakterije mliječne kiseline

(BMK), koje mogu biti homo-, hetero- ili fakultativno fermentativne. Homofermentativne BMK koristeći aldolazu proizvode dva mola laktata po molu glukoze, a heterofermentativne koristeći fosfoketolazu proizvode i etanol i CO_2 uz laktat (WANG *i sur.*, 2021). Fakultativne BMK mogu koristiti ili homo- ili heterofermentativne metaboličke puteve ovisno o okolišnim uvjetima i dostupnosti supstrata. U proizvodnji hrane važne homofermentativne BMK su *Lactobacillus lactis, Lactobacillus acidophilus* te *Lactobacillus helveticus*, važna heterofermentativna BMK je *Leuconostoc* spp., a fakultativne pak *Lactiplantibacillus palntarum* i *Lacticaseibacillus casei*.

Povijesno su fermentirane namirnice prisutne u ljudskoj prehrani već tisućljećima, a neki smatraju čak i od početka evolucije čovjeka (AMATO *i sur.*, 2021). Prvi tragovi primjene metoda fermentacije u proizvodnji hrane stari su i po nekoliko tisuća godina. Od fermentacije grožđa u sklopu proizvodnje vina iz Gruzije 5'000-6'000 prije Krista (MCGOVERN *i sur.*, 2017), do fermentacija riže, voća i meda u proizvodnji pića iz Kine 7'000 prije Krista (MCGOVERN *i sur.*, 2004) i proizvodnje sira prije čak 8'000 godina (ROSS *i sur.*, 2002). Opravdano se smatra kako je fermentacija u proizvodnji hrane možda najvažnija uloga koju su mikroorganizmi odigrali u povijesti čovječanstva, možda i više od proizvodnje antibiotika (VITORINO i BESSA, 2017; MACORI i COTTER, 2018). Proces fermentacije korišten je širom svijeta od strane svih prehrambenih kultura, bilo na biljnim namirnicama (voće, sjeme, gomolji, povrće) bilo životinjskim namirnicama (meso, mlijeko, riba, jaja), ovisno o dostupnosti u specifičnom okolišu (VOIDAROU *i sur.*, 2020). Teško je procijeniti ukupni broj vrsta fermentiranih namirnica širom svijeta, no smatra se kako se globalno proizvodi više od 5000 različitih vrsta (TAMANG *i sur.*, 2020). Zahvaljujući globalizaciji, danas je potrošačima dostupan ovaj širok raspon fermentiranih namirnica porijeklom iz različitih prehrambenih kultura širom svijeta (TAMANG *i sur.*, 2020). Metode fermentacije su se kroz povijest uvelike promijenile te se prehrambena industrija sve više odmiče od spontane prema standardiziranoj, odnosno preciznoj fermentaciji korištenjem dobro okarakteriziranih sojeva početnih kultura (CHAI *i sur.*, 2022).

Postoji više tipova klasifikacije fermentiranih namirnica, no uglavnom ih se klasificira na temelju ishodišne sirovine (SIDDIQUI *i sur.*, 2023). Tako razlikujemo fermentirane namirnice od žitarica, povrća, grahorica, gomolja, mlijeka, mesa, ribe, alkoholne napitke te one nastale kombinacijom sirovina (TAMANG *i sur.*, 2016a). Postoje velike regionalne razlike u raspodjeli i popularnosti tipova fermentiranih namirnica (VALENTINO *i sur.*, 2024). Dok se u Jugoistočnoj Aziji i južnoj Indiji uglavnom fermentiraju grahorice, konkretno soja, u Zapadnoj Aziji, sjevernoj Indiji, Europi i Sjevernoj Americi se fermentiraju žitarice, pšenica, ječam i zob te

mliječni i mesni proizvodi (TAMANG *i sur.*, 2020). Dodatno se razlikuju spontani fermenti i oni ovisno o kulturama. Kod nekih namirnica, kao što su kiseli kupus i kimchi, proces fermentacije započinje spontano zbog čega ih se naziva i „divljim" ili spontanim fermentima (REZAC *i sur.*, 2018). No, kod određenih proizvoda, kao što su kefir i kombucha, dodaje se početna kultura (engl. „starter") mikroorganizama prirodnog ili komercijalnog porijekla (YANN i PAULINE, 2014) koja inicira i regulira proces fermentacije (BEGANOVIĆ *i sur.*, 2014), zbog čega ih se naziva i fermentima ovisnima o kulturi. Pregled fermentiranih namirnica u Tablici 7.

Tablica 7: Pregled fermentiranih namirnica širom svijeta (prilagođeno po Dimidi i sur., 2019)

Mliječne

Ime	**Ishodišna sirovina**	**Porijeklo**	**Fermentacija**	**Istaknuti mikroorganizmi tijekom fermentacije**
jogurt	mlijeko	Turska, Bliski Istok	starter	*L. delbrueckii bulgaricus, S. termophilus* (DE SOUZA *i sur.*, 2024)
sirevi	mlijeko	Turska, Egipat Bliski Istok	a. starter b. spontana (plavi sirevi, parmezan, camembert, brie)	1) ovisno o tipu sira *2)* *Penicillium* spp., *Brevibacterium linens, L. helveticus* (REUBEN *i sur.*, 2023)
kefir	mlijeko	Kavkaz	starter (zrnca kefira)	*L. kefiri, casei, paracasei, lactis, Kluyveromyces marxianus, Saccharomyces cerevisiae, unisporus* (PRADO *i sur.*, 2015)
Biljne				
kombucha	čaj	Kina	starter (SCOBY)	*Komagataeibacter xylinus, Saccharomyces cervisiae, Acetobacter spp, Gluconoacetobacter* (COTON *i sur.*, 2017)

kiseli kupus	kupus (*Brassica oleracea*)	Kina	spontana	*L. plantarum, sakei, casei, curvatus, brevis, Pediococcus* spp., *Leuconostoc* spp. *Weissella* spp., (ZHOU *i sur.*, 2018)
kimchi	kineski kupus, mrkva, daikon, luk, začini	Koreja	spontana	*Leuconostoc* spp., *Weissella koreensis, L. sakei, Trichosporon, Saccharomyces unisporus, Pichia kluyveri* (PATRA *i sur.*, 2016)
kruh od kiseloga tijesta („sourdough“)	tijesto od mljevenih žitarica	Egipat, Rim	kiselo tijesto	*Saccharomyces exiguus, Candida milleri, L. brevis/rhamnosus, Leuconostoc mesenteroides* (DE VUYST *i sur.*, 2009)

L.: Lactobacillus; spp: species pluralis; SCOBY: „symbiotic cultre of bacteria and yeast“

Fermentirane namirnice važan su element zdrave ljudske prehrane (LEROY i DE VUYST, 2014). Danas širom svijeta raste popularni konsenzus kako je unos fermentiranih namirnica povezan s pozitivnim učincima po zdravlje (FLACHS i ORKIN, 2021). Kao prednosti fermentirane hrane navodi se kako se ona proizvodi od sirovih, neprocesuiranih i prirodnih namirnica, sadrži malo i nikako prehrambenih aditiva u smislu konzervansa, boja i pojačivača okusa, te se proizvode održivim, tradicionalnim i prirodnim metodama (LEEUWENDAAL *i sur.*, 2022). Dodatna prednost fermentirane hrane u kontekstu ljudske prehrane je što je ona lakše probavljiva (RANINEN *i sur.*, 2017; POLESE *i sur.*, 2018). Procesom fermentacije se poboljšava probavljivost složenih ugljikohidrata i proteina zbog razgradnje škrobova na oligosaharide te polipeptida na aminokiseline (YADAV i KHETARPAUL, 1994; ÇABUK *i sur.*, 2018; KÅRLUND *i sur.*, 2020). Fermentacijom mlijeka dolazi do destabilizacije kazeinske micele čime se postiže veća probavljivost mliječnih proteina (JARDIN *i sur.*, 2012; BEERMANN i HARTUNG, 2013), ali poboljšava i biodostupnost kalcija (ROZENBERG *i sur.*, 2016) i kalija (HADJIMBEI *i sur.*, 2022). Fermentacija smanjuje i udio antinutrijenata ishodišne namirnice, kao što su fitati i cijanogenični glikozidi (HONG *i sur.*, 2004; EMKANI *i sur.*, 2022). Česta je pojava kako osobe ne toleriraju izvornu sirovu namirnicu, ali ju mogu konzumirati u fermentiranom obliku bez

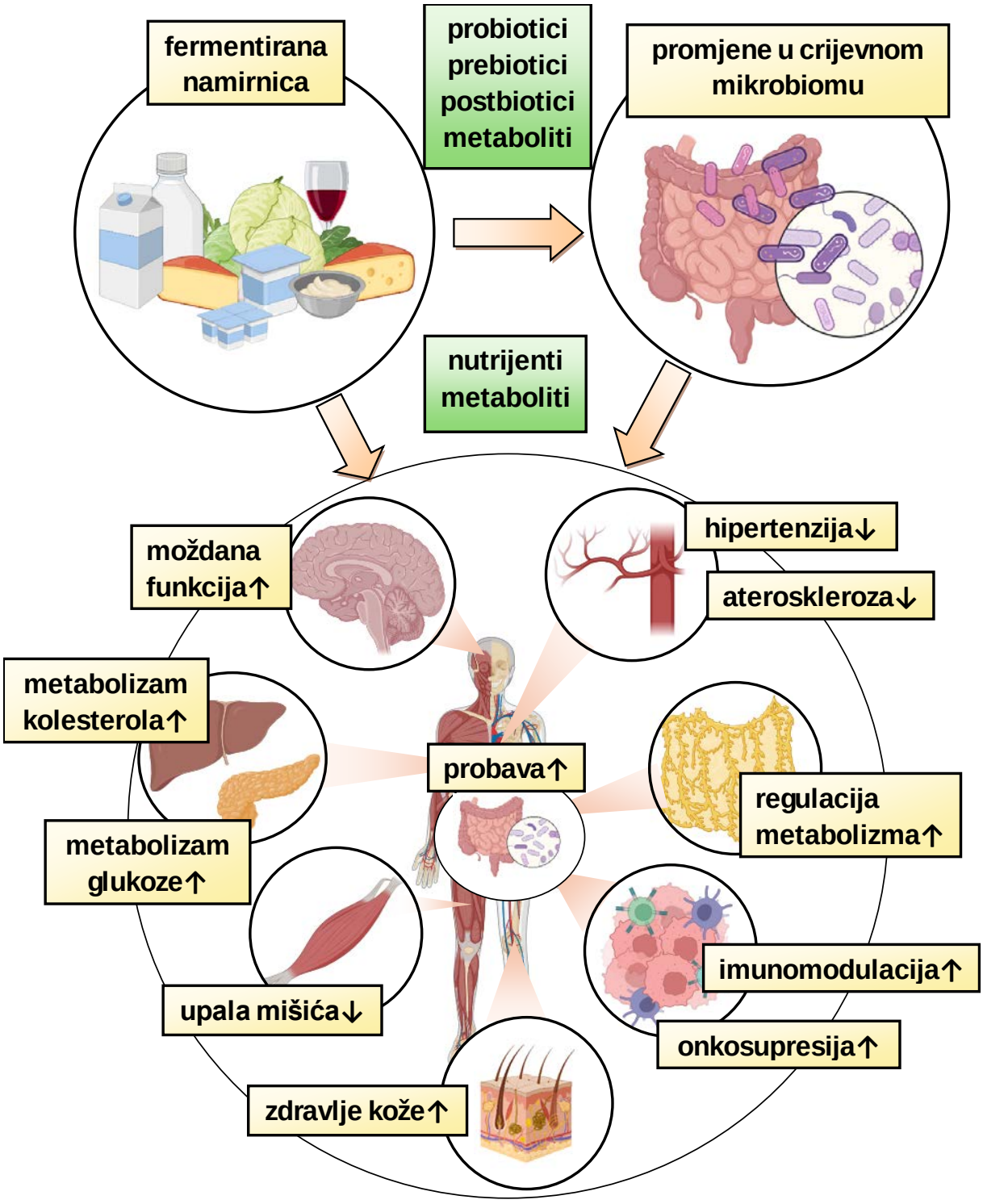
probavnih tegoba, kao što je često slučaj kod intolerancije na mliječne proizvode koje sadrže laktozu (LEEUWENDAAL *i sur.*, 2022) ili druge fermentabilne oligo-, di-, monosaharide i poliole (FODMAP) u sklopu IBS (LAATIKAINEN *i sur.*, 2016). Pošto fermentirane namirnice imaju pored samih nutritivnih vrijednosti i dodatne blagotvorne zdravstvene učinke smatraju se i funkcionalnim namirnicama (ROBERFROID, 2002; SHIMIZU, 2003).

Zdravstveni učinci fermentirane hrane su intenzivno istraživani i dobro dokumentirani (MARCO *i sur.*, 2017; FIJAN *i sur.*, 2024). Pregled dokazanih pozitivnih zdravstvenih učinaka unosa prototipskih mliječnih i biljnih fermentiranih namirnica prikazan je u Tablici 6 i Slici 2. Istraživanja na teško kondicioniranim pacijentima potvrdili su sigurnost primjene fermentiranih namirnica u zdravstvene svrhe (GUPTA *i sur.*, 2024).

Tablica 8: Pozitivni zdravstveni učinci fermentiranih namirnica (prilagođeno po Marco i sur. 2017 i Fijan i sur., 2024)

Namirnica	**Učinak**	**Referenca**
fermentirani mliječni proizvodi	regulacija tjelesne mase↑	(MOZAFFARIAN *i sur.*, 2011)
jogurt	kardiovaskularno zdravlje↑ rizik za šećernu bolest tip 2↓ mortalitet↓ broj *H. pylori*↓ imunomodulacija (IgA)	(SOEDAMAH-MUTHU *i sur.*, 2013; CHEN *i sur.*, 2014; TAPSELL, 2015; EUSSEN *i sur.*, 2016)
kefir	zdravlje kože↑ nadutost↓ zatvor↓ protuupalno djelovanje u IBD imunomodulacija metabolizam glukoze↑ hipertenzija↓	(TURAN *i sur.*, 2014; BELLIKCI-KOYU *i sur.*, 2019; YILMAZ *i sur.*, 2019; ALVES *i sur.*, 2021)
fermentirano mlijeko	metabolizam glukoze↑ upala mišića nakon treninga↓	(IWASA *i sur.*, 2013)
kimchi	pretilost↓ šećerna bolest↓ dislipidemija↓	(AN *i sur.*, 2013; CHOI *i sur.*, 2013a;

	imunomodulacija onkosupresija↑ zatvor↓ „anti-aging“ zdravlje kože↑	PARK *i sur.*, 2014; HAN *i sur.*, 2015)
kiseli kupus	težina IBS-a ↓	(NIELSEN *i sur.*, 2018)
razni ferment. proizvodi	raspoloženje↑ moždana aktivnost↑ CM↑	(TILLISCH *i sur.*, 2013; OMAGARI *i sur.*, 2014; HILIMIRE *i sur.*, 2015; TAYLOR *i sur.*, 2020)



Slika 3: Pregled potencijalnih pozitivnih zdravstvenih učinaka fermentiranih namirnica (vlastita slika izrađena u programu BioRender)

Prve spoznaje na ovu temu potječu još s početka 20. stoljeća, kad je nobelovac Mečnikov istraživao blagotvorna svojstva kiseloga mlijeka bugarskih seljaka (ANUKAM i REID, 2007).

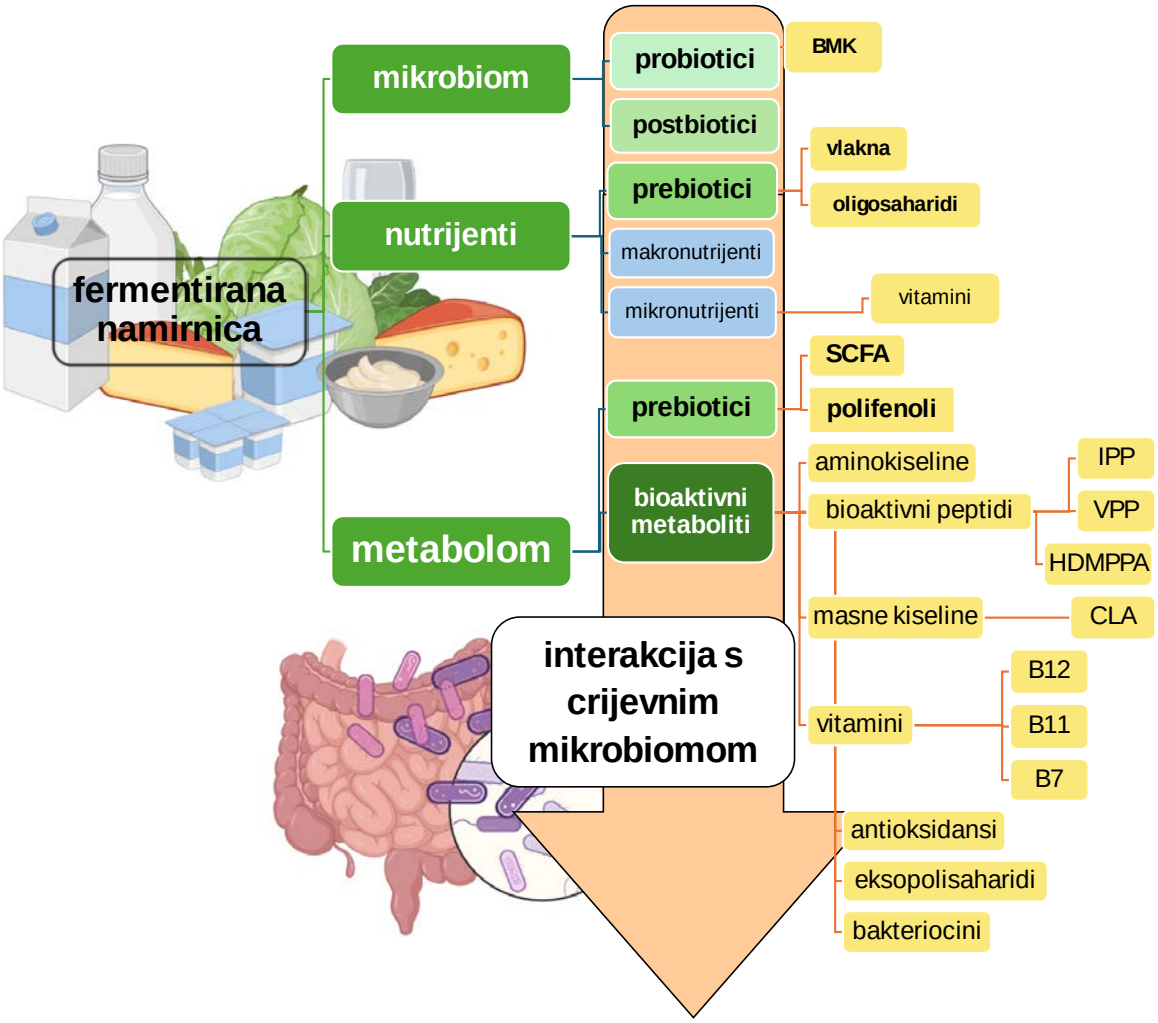
Ove spoznaje kulminirale su identifikacijom bioaktivnih peptida i mikrobnih metabolita iz fermentiranih namirnica sa blagotvornim učincima na zdravlje u suvremenoj biotehnologiji. Danas znamo kako mikroorganizmi kao što su BMK tijekom fermentacije (ZHENG *i sur.*, 2020)od proteina stvaraju aminokiseline i bioaktivne peptide zaključane u strukturi proteina, konvertiraju masti u dostupnije oblike kao što je konjugirana linoleinska kiselina te proizvode velik raspon metabolita (ŞANLIER *i sur.*, 2019), od SCFA, vitamina (ALTAY *i sur.*, 2013; FERNÁNDEZ *i sur.*, 2015; BASCHALI *i sur.*, 2017), antioksidansa (SAMARANAYAKA i LI-CHAN, 2011), eksopolisaharida (kefiran) (RYAN *i sur.*, 2015), bakteriocina (DE CASTILHO *i sur.*, 2019) te GABA (BEERMANN i HARTUNG, 2013), ali i probavnih enzima koji potpomažu probavu (npr. laktaza (GRANATO *i sur.*, 2010) zbog čega se opravdano smatra kako fermentirane namirnice slično kao i drugi mikrobiološki eko-sustavi imaju svoj specifičan metabolom. Upravo je metabolom, pored mikroorganizama i njihovog utjecaja na CM, odgovoran za pozitivne zdravstvene učinke fermentiranih namirnica. Tako kimchi sadrži 3-(4'-hidroksil-3',5'-dimetoksifenil) propionat (HDMPPA) koji ima antiaterogene učinke (KIM *i sur.*, 2018), a jogurt, sir i kobasice (TAKEDA *i sur.*, 2017)sadrže laktotripeptide isoleucin-prolin-prolin (IPP) i valin-prolin-prolin (VPP) koji imaju antihipertenzivni učinak zbog inhibicije angiotenzin-1-konvertirajućeg enzima (ACE) (SOLIERI *i sur.*, 2015; RAI *i sur.*, 2017).

Procesom fermentacije se u prehrambenom proizvodu razvija i specifičan bogat i raznolik mikrobiom (TAMANG *i sur.*, 2016b). Mnoge pozitivne zdravstvene učinke fermentirana hrana ostvaruje upravo zahvaljujući svom mikrobiomu (CAFFREY *i sur.*, 2024). Sastav mikrobioma određene fermentirane namirnice ovisi o dostupnosti supstrata u ishodišnoj sirovini, okolišnim čimbenicima te uvjetima samog procesa fermentacije, kao i mikroorganizmima uključenim u procesu fermentacije (LEEUWENDAAL *i sur.*, 2022). Zahvaljujući dostupnosti amplikon sekvenciranja se metagenomskim analizama otkrila iznimno raznolika zajednica mikroorganizama unutar fermentiranih namirnica (COEURET *i sur.*, 2003), čiji su mnogi članovi dosad bili nepoznati jer nisu direktno uključeni u proces fermentacije ili nisu prisutni unutar početne kulture (QUIGLEY *i sur.*, 2012) niti ih je bilo moguće kultivirati konvencionalnim mikrobiološkim metodama. Uobičajeno se mikrobiomi fermentiranih namirnica sastoje od bakterija, kvasaca i plijesni (PIHUROV *i sur.*, 2023). Najbrojniji članovi u svim fermentiranim namirnicama, osim onih ribljih, su bakterije iz roda *Lactobacillus* spp. s udjelima od 4,68% u mesnim do 32,7% u mliječnim namirnicama (VALENTINO *i sur.*, 2024). Pored BMK u fermentiranim namirnicama prisutne su *Acetobacter, Bacillus, Bifidobacterium, Hafnia, Klebsiella* od bakterija, od kvasaca *Candida, Cryptococcus, Dekkera* itd., a od filamentoznih

gljivica *Aspergillus, Mucor, Rhizopus* i *Penicillium* (TAMANG *i sur.*, 2016a, 2017). Mikrobiom fermentirane namirnice je dinamičan te se njegov sastav mijenja tijekom procesa fermentacije (COTTER i BERESFORD, 2017). Smatra se kako mikrobna zajednica fermentiranih namirnica doseže od najmanje 10^6 CFU/g (REZAC *i sur.*, 2018) pa sve do 10^8 CFU/g (LEEUWENDAAL *i sur.*, 2022). Mikrobiom fermentiranih namirnica istražuje se i u kontekstu izolacije novih probiotskih sojeva za komercijalne svrhe, kao što je to slučaj s *Lactobacillus helveticus* Rosell-52 za regulaciju osi crijevo-mozak (WIĄCEK *i sur.*, 2024) ili *Hafnia alvei* Ha4597 za regulaciju apetita (LEGRAND *i sur.*, 2020), koji je izoliran iz camemberta.

Zahvaljujući metodama sekvenciranja nove generacije i metagenomike, danas je moguće precizno pratiti učinak fermentirane hrane na CM. U presječnim istraživanjima CM osoba koje redovito konzumiraju biljne fermentirane namirnice razlikuje se značajno po pitanju β-raznolikosti te je sadrži veće udjele *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Dorea* spp. i *Lachnospiraceae* (HAN *i sur.*, 2015; TAYLOR *i sur.*, 2020), a kod onih koji konzumiraju mliječne fermentirane namirnice (jogurt) *Streptococcus thermophilus* i *Bifidobacterium animalis* (LE ROY *i sur.*, 2022). S time je CM bogatiji bakterijama povezanim s fermentiranom hranom kao što su razne BMK, ali i nekim nepovezanim bakterijama, kao što su neke vrste *Prevotella* i *Enterococcus* (TAYLOR *i sur.*, 2020). Pregled literature iz 2024. godine identificirano je 42 intervencijska istraživanja na ljudima sa specifičnim fermentiranim namirnicama, od kojih je u 24 ispitana i modulacija CM (VALENTINO *i sur.*, 2024). U kontekstu modulacije CM korištene su uglavnom mliječne fermentirane namirnice (20 studija), kao što su kiselo (fermentirano) mlijeko (10 studija), jogurt (6 studija), kefir (2 studije) ili sir (2 studije) (SHEU *i sur.*, 2006; FIRMESSE *i sur.*, 2008; LISKO *i sur.*, 2017), a od biljnih kimchi (2 studije) (HAN *i sur.*, 2015; KIM i PARK, 2018), kiseli kupus (1 studija) (NIELSEN *i sur.*, 2018) i kruh od kiseloga tijesta (1 studija) (KOREM *i sur.*, 2017). Iako rezultati ovise o odabranoj namirnici, generalno u humanim intervencijskim istraživanjima redovan unos fermentiranih namirnica povećava α-raznolikost (WASTYK *i sur.*, 2021), a ovisno o primijenjenoj namirnici potencijalno dolazi i do povećanja udjela bakterijskih skupina povezanih s proizvodnjom SCFA i imunomodulatornim djelovanjem i smanjenja udjela potencijalno patogenih bakterija (CHENG *i sur.*, 2005; INOGUCHI *i sur.*, 2012; VEIGA *i sur.*, 2014; UNNO *i sur.*, 2015; BELLIKCI-KOYU *i sur.*, 2019). Zbog gore navedenih učinaka na sastav CM primjena fermentirane hrane potencijalno je učinkovita u suzbijanju disbioze, poremećaja CM, no zbog heterogenosti istraživanja ovu hipotezu trenutno još nije moguće potvrditi znanstvenim dokazima (STIEMSMA *i sur.*, 2020).

Fermentirane namirnice oblikuju CM na više načina, neposredno i posredno. Putem sadržanih mikroorganizama, putem nutrijenata same namirnice te metabolita mikrobioma namirnice. Stoga se fermentirane namirnice smatraju sinbioticima (SWANSON *i sur.*, 2020): sadrže probiotike, žive mikroorganizme s blagotvornim djelovanjem (HILL *i sur.*, 2014), prebiotike, supstrate koje CM selektivno može iskoristiti s blagotvornim učinkom na zdravlje te postbiotike (GIBSON *i sur.*, 2017), fragmente i inaktivirane mikroorganizme s također blagotvornim učinkom na zdravlje (SALMINEN *i sur.*, 2021b). Od prebiotika se u kontekstu fermentirane hrane i njezine interakcije s CM najviše izdvajaju dva tipa: polifenoli (CARDONA *i sur.*, 2013; ANNUNZIATA *i sur.*, 2020; SHIFERAW TEREFE i AUGUSTIN, 2020) i SCFA dobivene fermentacijom prehrambena vlakna (VOREADES *i sur.*, 2014). Fermentacija može povećati biodostupnost polifenola u fermentiranim namirnicama (ZHAI *i sur.*, 2018; LI *i sur.*, 2023a). Polifenoli u CM mogu povećati udjele protuupalnih bakterija, jer primjerice nekim *Lactobacillus* spp. može poslužiti kao prehrambeni supstrat (AURA, 2008; PARKAR *i sur.*, 2013), a s druge strane selektivno inhibiraju rast i virulenciju isključivo patogena unutar CM (LEE *i sur.*, 2006; HERVERT-HERNÁNDEZ *i sur.*, 2009; HERVERT i GOÑI, 2011; NASH *i sur.*, 2018; LESSARD-LORD *i sur.*, 2024). Neke fermentirane namirnice iznimno su bogate SCFA (VAN HYLCKAMA VLIEG *i sur.*, 2011), primjerice ocat acetatom (DARZI *i sur.*, 2014) ili tvrdi talijanski sirevi (SUMMER *i sur.*, 2017). SCFA po dospijeću u crijeva snižavaju pH-vrijednost luminalnog miljea (PESSIONE, 2012) te potiču proizvodnju mucina od strane kolonocita (BURGER-VAN PAASSEN *i sur.*, 2009), zbog čega su važan prebiotik za rast i razvoj CM (SICARD *i sur.*, 2017; KORCZ *i sur.*, 2018). Interakcija fermentirane namirnice s CM je iznimno složena zbog mnoštva njihovih komponenti koje imaju mogućnost modulacije CM (Slika 2). Iako je više istraživanja potvrdilo i učinkovitost pojedinačnih izoliranih komponenti na CM, bilo to sojevi probiotika (PARK *i sur.*, 2017), prebiotici (MORENO-ARRIBAS *i sur.*, 2020) ili metaboliti (HAN *i sur.*, 2015; NIELSEN *i sur.*, 2018), smatra se kako komponente fermentiranih namirnica zajedno imaju sinergistički učinak pri modulaciji CM (DIMIDI *i sur.*, 2019).



Slika 4: Interakcija fermentirane namirnice sa crijevnim mikrobiomom (vlastita slika izrađena u programu BioRender)

Dio mikrobioma fermentirane namirnice može kolonizirati CM osobe koja ju konzumira. U više istraživanja potvrđeno kako neki članovi istog mogu preživjeti okolišne stresore tijekom pasaže kroz probavni trakt, kao što su niska pH-vrijednost želučanog soka, probavne enzime gušterače i visoku pH-vrijednost žuči, i živi dospjeti u crijeva (DE VRIES *i sur.*, 2006; ZAGO *i sur.*, 2011; BEGANOVIĆ *i sur.*, 2014) . Pored pasaže kroz probavni trakt, za uspješnu kolonizaciju bakterije iz mikrobioma namirnice moraju imati mogućnost adhezije na epitel crijeva domaćina (MARCO *i sur.*, 2017; DE FILIPPIS *i sur.*, 2020). Pošto je jedno i drugo teško za ispitati kako u in vitro, a pogotovo u in vivo uvjetima teško je za procijeniti kolika je

sposobnost kolonizacije mikrobioma fermentirane namirnice (ROSELLI *i sur.*, 2021). Učinak na autohtonu CM može biti kratkoročan ili dugoročan, ovisno uglavnom o tome je li kolonizacija mikrobiomom fermentirane namirnice prolazna ili dugoročna (MARCO *i sur.*, 2017; REZAC *i sur.*, 2018). No, s obzirom na varijabilnost primarno CM, ali i mikrobioma fermentiranih namirnica to je i dalje zahtjevno za ispitati (LANG *i sur.*, 2014; PLÉ *i sur.*, 2015), jer proces kolonizacija uvelike ovisi i o sastavu CM domaćina (MALDONADO-GÓMEZ *i sur.*, 2016; ZHANG *i sur.*, 2016).

Kiseli kupus je vjerojatno najpopularnija fermentirana hrana u Europi (MARCO *i sur.*, 2017; MOTA DE CARVALHO *i sur.*, 2018). Radi se o fermentiranom proizvodu od povrća dobivenom spontanom mliječnom fermentacijom sirovog svježeg bijelog kupusa (*Brassica oleracea* L. var. capitata) u slanoj otopini koja sadrži 2-4% natrijevog klorida (DI CAGNO *i sur.*, 2016; BELL *i sur.*, 2018).

Proizvodnja kiseloga kupusa odvija se u nekoliko ključnih koraka. Svježi kupus je potrebno pripremiti, tako što se očisti pa potom u nekim slučajevima i usitni ribanjem ili rezanjem na manje komade. Time se može smanjiti koncentracija soli u otopini za fermentaciju jer sol lakše može penetrirati stijenku stanica kupusa. Potom se sirovi kupus miješa sa slanom otopinom koja sadrži empirijski definiran omjer soli, generalno između 2% do čak 7% ovisno o tradiciji. Sol osmozom uništava stijenku stanica kupusa čime izvlači tekućinu iz njega i mijenja njegovu teksturu. Dodatno sol inicijalno djeluje kao konzervans, jer inhibira rast kvarljivih mikroorganizama i time omogućava korisnim bakterijama da započnu proces fermentacije. Dodavanje soli je kritična točka fermentacije jer ona definira tip i razmjer mikrobnog rasta, ali i organoleptička svojstva finalnog proizvoda (BEGANOVIĆ *i sur.*, 2014). Kupus se hermetički pakira u sterilne posude kako bi se eliminirao zrak, što osigurava anaerobne uvjete potrebne za početak fermentacije.

Proces fermentacije je spontan jer uključuje primarno BMK koje su prirodno prisutne na svježem kupusu kao sirovom supstratu (BEGANOVIĆ *i sur.*, 2014) ili u okolišu za preradu hrane, poput *Weissella spp., Leuconostoc mesenteroides, Levilactobacillus brevis, Lactiplantibacillus plantarum* i *Pediococcus pentosaceus* (DI CAGNO *i sur.*, 2016; ZABAT *i sur.*, 2018; YANG *i sur.*, 2020b) , kao i gljivice, kvasci i drugi mikroorganizmi. Razgradnjom mono- i disaharida svježeg kupusa, prvenstveno glukoze, fruktoze (heksoza) i saharoze, BMK i drugi mikroorganizmi uključeni u proces fermentacije proizvode primarno laktat, ali i acetat, etanol, CO2, manitol, aromatske spojeve (diacetil, acetaldehid), bakteriocine, aminokiseline, eksopolisaharide i

propionat. Mikrobna zajednica kiseloga kupusa se mijenja tijekom procesa fermentacije. Zahvaljujući specifičnim bakterijskim procesima tijekom fermentacije kupusa, mikrobna zajednica finalnog proizvoda, kiseloga kupusa, je bogata i raznolika, ali istovremeno malih udjela patogenih mikroorganizama zbog niske pH vrijednosti i anaerobnih uvjeta medija.

Prva, početna faza fermentacije traje najduže tri dana. U toj fazi dominantni mikroorganizmi su heterofermentativne BMK poput *Leuconostoc mesenteroides*. Ove bakterije proizvodnjom laktata, acetata i CO_2 koristeći fosfoketolazni put (6-fosfoglukonatni put ili pentozofosfatni put) brzo snižavaju pH, čime se vrlo rano inhibira rast patogenih i kvarljivih mikroorganizama. No, pošto je sam *Leuconostoc* je osjetljiv na niske pH vrijednosti porastom koncentracije laktata njihova populacija odumire i biva zamijenjena vrstama BMK koji bolje toleriraju acidofilni milje.

Intermedijarna faza traje od 3 do 7 dana. Tad u mikrobnoj populaciji počinju prevladavati, s obzirom na zastupljenost, homofermentativne BMK kao što su *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paraplantarum, Lactobacillus brevis* i *Lactobacillus casei,* koje toleriraju niže pH vrijednosti. Ove bakterijske vrste putem glikolize uglavnom proizvode laktat.

Kasna faza fermentacije traje od 7 do 21 dana. Homofermentativne BMK postaju najdominantniji član, i to najvećim udjelom *Lactobacillus plantarum.* No, mogu se pojaviti i novi članovi iz skupine BMK i to *Pediococcus pentosaceus.* U ovoj fazi dolazi do stabilizacije pH na niskim razinama, čak do 3,5, ali i sastava mikrobne zajednice zbog čega kupus dobiva svoja finalna organoleptička i mikrobna svojstva te nemogućnosti kontaminacije patogenim mikroorganizmima.

Faza sazrijevanja nastupa nakon 21 i više dana. Mikrobna zajednica kupusa je stabilna, te je okarakterizirana visokim udjelom homofermentativnih BMK. Metabolička aktivnost se usporava zbog slabe dostupnosti mono- i disharaida za fermentaciju te nema promjena pH vrijednost koja je značajno snižena u ovim uvjetima. Time se kiseli kupus, kao finalni proizvod, može skladištiti dugotrajno bez utjecaja na njegovu kvalitetu.

Mikrobna zajednica kiseloga kupusa, i općenito drugih fermentiranih namirnica biljnog porijekla je slabije istražen nego mikrobiom mliječnih fermentiranih namirnica kao što su jogurt, kefir i sirevi. U mikrobiomu kiseloga kupusa, kao finalnog proizvoda, ključni mikroorganizmi su BMK, kvasci, ali i drugi mikroorganizmi (LIU *i sur.*, 2021b; THIERRY *i sur.*, 2023). Od BMK najvažniji su *Leuconostoc mesenteroides, Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus brevis*. *Leuconostoc mesenteroides* je BMK koja započinje proces fermentacije i

pored laktata proizvodi i CO_2, etanol, ali i manitol koji kiselom kupusu daje blago sladak okus (HU *i sur.*, 2022). *Lactobacillus plantarum* nastavlja procese fermentacije i ona uglavnom proizvodi laktat. *Lactobacillus brevis* aktivna je u kasnoj fazi fermentacije i doprinosi organoleptičkim svojstvima finalnog proizvoda (okus, tekstura). Kvasci su prisutniji u znatno manjim količinama nego BMK i uglavnom doprinose formiranju aroma tijekom fermentacije. Bitno je spomenuti bakteriofage zbog značajne uloge u regulaciji rasta patogenih mikroorganizama, ali i *Propionibacterium spp.* koje proizvode propionat koji također utječe na specifične arome finalnog proizvoda.

Kiseli kupus klasificira se kao hrana s visokim brojem živih mikroba po gramu (MARCO *i sur.*, 2022). Među tim mikroorganizmima su i mikrobne vrste sa znanstveno dokazanim korisnim učincima na zdravlje, s probiotičkim svojstvima . Nekoliko sojeva probiotičkih bakterija izoliranih iz kiseloga kupusa otporno je na žučne soli i nisku želučanu pH vrijednost (TOURET *i sur.*, 2018), a nekolicina čak pokazuje otpornost na β-hemolizu i antimikrobnu aktivnost. Kiseli kupus kao namirnica je potencijalni izvor probiotika koji utječu na sastav i funkcionalnost CM. Ovi učinci se mogu očitovati promjenama u funkciji crijeva, ali i van probavnog sustava.

Pored probiotika nutritivnoj vrijednosti kiseloga kupusa doprinose i vitamini i minerali koje on sadrži. Fermentacija naime povećava bioraspoloživost vitamina C, K i određenih vitamina B kompleksa (folna, B9), ali i minerala željeza i kalija.

U sklopu fermentacije nastaju mnoge supstance s potencijalnim antimikrobnim djelovanjem, odnosno suzbijaju rast patogenih i proupalnih mikroorganizama.

Vlakna unutar kiseloga kupusa koji su prošli proces fermentacija spadaju u ugljikohidrate dostupne mikroorganizmima („microbe accessible carbohydrates“, MAC), zbog čega ona posjeduju prebiotski potencijal (XU *i sur.*, 2021; AYAKDAŞ i AĞAGÜNDÜZ, 2023).

Tijekom fermentacije, kontrolirani bakterijski metabolizam pretvara fermentabilne supstrate, uglavnom ugljikohidrate i proteine, u biološki aktivne metabolite, uključujući kratkolančane masne kiseline (SCFA) i biogene amine (GAUDIOSO *i sur.*, 2022).Kratkolančane masne kiseline (SCFA) poput butirata, biogenih amina i prirodnih poliamina (putrescin, spermin, spermidin) pokazale su da izazivaju povoljne učinke u gastrointestinalnom traktu (motilitet crijeva, funkcija barijere, izvor energije) i imunološkom sustavu (antioksidativni, protuupalni učinci) (HAVENAAR, 2011; WUNDERLICHOVÁ *i sur.*, 2014; FERNÁNDEZ-REINA *i sur.*, 2018).

Stoga se kiseli kupus opravdano može smatrati sinbiotikom jer sadrži prebiotička vlakna (GIBSON *i sur.*, 2017) , mikrobnu populaciju živih korisnih bakterije (HILL *i sur.*, 2014) i postbiotika (SALMINEN *i sur.*, 2021b) koji prilikom konzumacije kiseloga kupusa nisu živi, kao i bogat metabolom koji uključuje SCFA, biogene amine, bakteriocine i mnoge druge komponente.

Zdravstvene koristi konzumacije kiseloga kupusa proučavane su u ograničenom broju istraživanja, uglavnom *na in vitro* modelima, dok su klinička ispitivanja na ljudima još uvijek rijetka. No, istraživanje iz 2018. potvrdilo je kako je redovan unos kiseloga kupusa kod pacijenata sa sindromom iritabilnog kolona (IBS) povezan sa značajnim promjenama u CM, ovisno o pasterizaciji proizvoda (NIELSEN *i sur.*, 2018).

Ipak, konzumacija fermentirane hrane sličnih svojstava kao što posjeduje kiseli kupus povezana je s određenim zdravstvenim benefitima, pogotovo u pogledu probave, imuniteta i metabolizma (sekcija 2.2.5.). Promjenama sastava CM osobe koje ga konzumira, pogotovo u smislu povećanja raznolikosti mikrobne zajednice i smanjenjem udjela potencijalno patogenih bakterija (TAYLOR *i sur.*, 2020), dolazi do promjena u funkcionalnosti, odnosno zastupljenosti specifičnih mikrobnih metaboličkih puteva. Tako primjena kiseloga kupusa može potencijalno blagotvorno djelovati na poremećaje probavnih funkcija poput različitih funkcionalnih poremećaja (IBS), poboljšati imunološke funkcije kao što je obrana organizma od infekcija i imuni odgovor na tumorske procese (glukozinolat), ali i metaboličke poremećaje kao što je šećerna bolest (HIGASHIKAWA *i sur.*, 2010; MOROTI *i sur.*, 2012) i kardiovaskularno zdravlje (koncentracija kolesterola). Najbolje je istražen učinak fermentirane hrane, kao što je kiseli kupus na imunitet (IWASA *i sur.*, 2013; O'BRIEN *i sur.*, 2015): dokazano je kako je redovan unos relativno velike količine fermentirane hrane povezan sa smanjenjem dijagnostičkih biljega upalnog odgovora, kao što su IL-6, IL-10 i IL-12b (WASTYK *i sur.*, 2021).

Kiseli kupus i druge biljne fermentirane namirnice dobivaju sve više na pozornosti upravo zbog spomenutih korisnih učinaka fermentiranim namirnicama biljnog porijekla na zdravlje.

2.4. Metode

2.4.1. Određivanje unosa hrane i pića kod športaša

Dijetetičke metode određivanja hrane i unosa pića se mogu provoditi u različite svrhe. One mogu biti korištene u znanstvene svrhe, u kliničke svrhe u okviru dijetoterapije ili pak u tehnološke i komercijalne svrhe od strane prehrambene industrije (BAILEY, 2021). Razlikujemo direktne i indirektne dijetetičke metode. Dok se kod direktnih metoda podaci o prehrani dobivaju direktno od samog pojedinca, indirektne metode koriste sekundarne podatke proizašle iz evaluacije primjerice zaliha hrane ili izdataka za hranu u procjeni dostupnosti hrane (SATALIC *i sur.*, 2007). Većina direktnih dijetetičkih metoda je retrospektivno: 24- satno prisjećanje, upitnik o učestalosti konzumiranja hrane (engl. „food frequency questionnaire“, FFQ) te povijest prehrane. Mana retrospektivnih metoda je što ovise o pamćenju pojedinca, odnosno sposobnosti rekonstrukcije prehrambenog unosa. Zbog tog se od direktnih metoda mogu koristiti i prospektivne metode koje se provode u realnom vremenu: duplikat dijeta, dnevnik prehrane i dnevnik prehrane uz vaganje. No, prospektivne metode zato zahtijevaju veliku predanost i posvećenost pojedinca (CADE, 2017).

Ukoliko se dijetetička metoda provodi u znanstvene svrhe, pri odabiru same metode potrebno je voditi se dizajnu i cilju istraživanja, kao i razini tehničkih, logističkih i financijskih uvjeta. Preduvjet za uspješnu provedbu iste je pronalazak ravnoteže između opterećenja ispitanika i kvaliteti i pouzdanosti dobivenih informacija.

Dnevnik prehrane je jedna od najčešće korištenih dijetetičkih metoda. Praćenje prehrambenog unosa vrši ispitanik samostalno ili pod vodstvom istraživača tako što kontinuirano zapisuje količinu i vrsta konzumirane hrane u danom trenutku, prije ili nakon konzumacije. Dnevnik prehrane prati prehrambeni unos uglavnom par dana, u rasponu od jednog do najčešće sedam dana. Idealno je dnevnik prehrane voditi i radnim danima i tijekom vikenda, kako bi se što preciznije utvrdile i varijacije u prehrambenom odnosu ovisno o danu u tjednu. Količine se u dnevniku prehrane mogu iskazivati ili prema nekoj jedinici, npr. doručak 1 jabuka, ili posuđu, npr. doručak šalica kravljeg pasteriziranog mlijeka. No, najpreciznije je određivanje količine hrane vaganjem ili nekim drugim alternativnim oblikom kalibriranog mjerenja, s time da treba uzeti u obzir kako takav oblik određivanja uvijek predstavlja veće opterećenje za ispitanika. Alternativno se u određivanju količine konzumirane hrane u dnevniku prehrane mogu koristiti i atlasi porcija namirnica popularnih u određenom podneblju (NIKOLIĆ *i sur.*, 2018).

Prednost dnevnika prehrane je njegova relativno veća pouzdanost u usporedbi s metodama koje prate unos tijekom kraćeg vremenskog razdoblja, kao što su 24-satno prisjećanje ili jednodnevni dnevnik prehrane. No, pouzdanost ove metode ograničena je i mnogim manama. Jedna od mana

ove metode je što pouzdanost dnevnika ovisi uvelike o pamćenju ispitanika jer ispitanici tijekom istraživanja tek rijetko u idealnim uvjetima neposredno prije, tijekom ili poslije unosa hrane zapisuju isti u dnevnik (ISHIHARA, 2015). No, možda glavna mana ove metode je njezino vremensko i kognitivno opterećenje ispitanika: preduvjet za primjenu ove metode u sklopu istraživanja su voljni moment, pažnja i kognitivni kapacitet ispitanika za vođenje detaljnog i kvalitetnog dnevnika. Ukoliko to nije slučaj postoji izvjestan rizik prikaza neadekvatnog unosa energije i nutrijenata, jer će ispitanik pribjeći pojednostavljivanju ili izbjegavanju (BUSGANG *i sur.*, 2022).

Alternativa složenijem vođenju dnevnika prehrane je 24-satno prisjećanje. Ova metoda sastoji se od praćenja konzumacije hrane i pića tijekom jednog cijelog dana, od buđenja do odlaska na spavanje (FOSTER i BRADLEY, 2018). Prednosti ove metode su smanjenje opterećenja ispitanika jer u ovoj metodi i sam istraživač pomaže bilježiti unos hrane vođenim pitanjima i prijedlozima po pitanju veličina porcija i svojstava namirnica. Dodatna pitanja istraživača pomažu ispitanicima u prisjećanju, pogotovo na međuobroke i elemente obroka ili unos hrane tijekom drugih, pogotovo društvenih aktivnosti. Ispitanici su skloni ne navesti neke namirnice kao što su umaci, napitci i pića, makar oni često znaju sadržavati značajan unos energije i nutrijenata tijekom dana, zbog vlastitog subjektivnog dojma o tim namirnicama (VAN DYKE *i sur.*, 2024). Pored smanjenja opterećenja ispitanika, prednosti su njezina jednostavnost, (cjenovna) dostupnost i brzina. Mane ove metode su njezina ograničena objektivnost: ispitanik ovisno o različitim interesima može mijenjati svoj iskaz, zbog čega je iskrivljenje podataka naspram stvarnog unosa hrane vrlo lako moguće. Pogotovo u direktnoj komunikaciji s istraživačima moguće je prešućivanje cijelih obroka ili pojedinih namirnica ili pak umanjivanje količina zbog nelagodnosti ispitanika (GARDEN *i sur.*, 2018).

2.4.2. Analiza mikrobiote amplikon sekvenciranjem

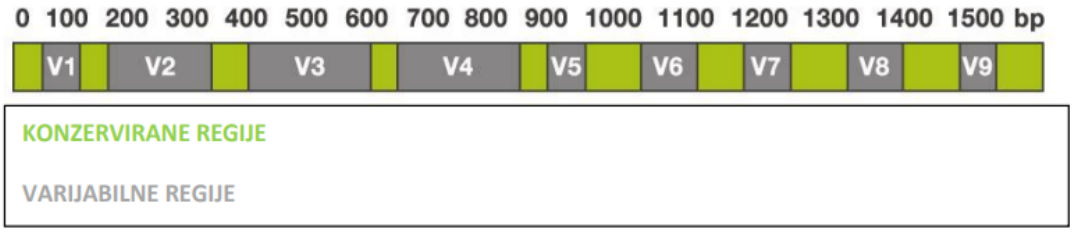
Analiza mikrobiote je metoda koja proučava mikrobne zajednice određenog staništa žive ili nežive prirode. Danas se u znanosti, industriji ali i forenzici analiziraju mikrobiote određenog organa čovjeka ili životinje, ali i namirnica, tla i vode (KUMARI *i sur.*, 2022). Analize mikrobiote omogućile su nove generacije amplikon sekvenciranja. Popularnost novih generacija sekvenciranja, posebno amplikon sekvenciranja zbog svojih mnogostrukih prednosti raste kontinuirano. Iako su tradicionalne mikrobiološke metode kultivacije i izolacije

individualnih mikroorganizama i dalje iznimno važne u kliničkoj praksi i znanosti (MAHNIC *i sur.*, 2021; AN *i sur.*, 2022), nove metode sekvenciranja otvorile su potpuno nove mogućnosti proučavanja mikroorganizama i njihovih potencijalnih uloga. Zahvaljujući ovim metodama došlo je do promjene fokusa s individualnih mikroorganizama prema zajednicama mikroorganizama, odnosno mikrobiotama (GUPTA *i sur.*, 2019). Stoga ne čudi što se u suvremenoj mikrobiologiji pretežito uvijek o mikroorganizmima govori u kontekstu njihove zajednice, odnosno mikrobnog eko-sustava u kojem se oni najčešće i nalaze, a ne isključivo izoliranih jedinki. Štoviše, analizom mikrobiote otkrivene su mnoge taksonomske skupine mikroorganizama koje tradicionalnim metodama nije bilo moguće detektirati (HE *i sur.*, 2022). Nove generacije sekvenciranja temeljni su alat velike većine znanstvenih projekata u svrhu određivanja humane mikrobiote širom svijeta (FALONY *i sur.*, 2016; PROCTOR *i sur.*, 2019; REN *i sur.*, 2023), pošto su se pokazale kao pouzdane, praktične i precizne. Jedna je od najčešćih novih metoda korištenih u eksperimentalne svrhe je sekvenciranje 16S rRNA gena za određivanje udjela vrsta bakterija sastavnice neke mikrobiote (JOHNSON *i sur.*, 2019), i to najčešće na Illumina MiSeq uređaju za sekvenciranje.

U svijetu metagenomike, odnosno analize mikrobiote, sekvence DNK analiziranog genetskog materijala mikroorganizama predstavljaju glavni izvor informacija (ZHANG *i sur.*, 2021). Amplikon sekvenciranje bazira se na principu „barkodova“, koji kaže kako i kratka standardna sekvenca DNK može odrediti taksonomsku skupinu nekog mikroorganizma, jer su genetske razlike između različitih skupina veće od onih unutar iste skupine (HAJIBABAEI *i sur.*, 2007). Zahvaljujući metodama sekvenciranja nove generacije primjena takozvanih DNK „barkodova“, jedne ili više relativno kratkih genskih sekvenci od 500-1000 pb, postala je iznimno precizna, brza i pouzdana za identifikaciju taksonomskih skupina članova mikrobiote (PURTY i CHATTERJEE, 2016).

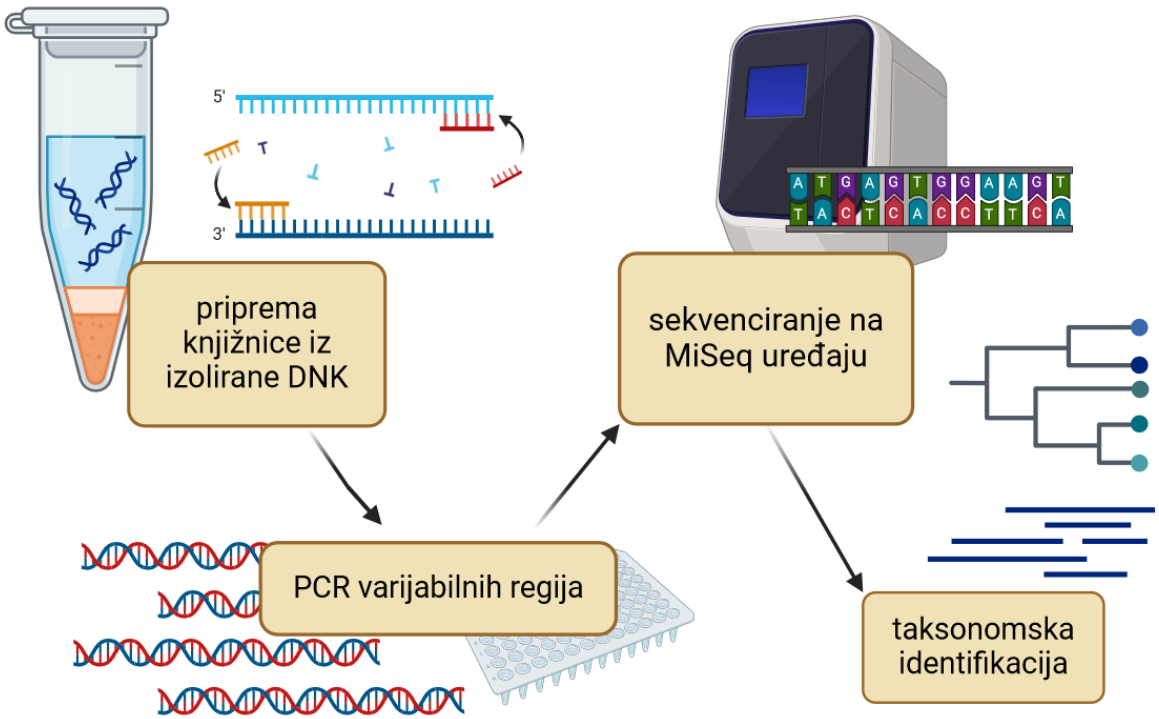
Ovi „DNK“ barkodovi su zapravo molekularni biljezi koji služe za razvrstavanje mikroorganizama unutar nekog eko-sustava po taksonomskim skupinama. Ove sekvence mogu se nalaziti u kodirajućim i nekodirajućim regijama DNK. Kako bi određen dio DNK mogao biti korišten u svrhu amplikon sekvenciranja, on mora posjedovati određena svojstva (LIU *i sur.*, 2021a). Mora se raditi o takozvanom „housekeeping“ fragmentu koji je prisutan u svim bakterijskim vrstama. Nadalje, taj isti fragment DNK mora posjedovati visok stupanj polimorfizma što omogućava diferencijaciju između pojedinih taksonomskih skupina te biti konzerviran u pojedinim regijama kako bi se olakšao dizajn početnica za replikaciju fragmenta DNK. Poznato je nekoliko potencijalnih molekularnih biljega koji se mogu koristiti u svrhu

amplikon sekvenciranja: geni 16S rRNA, 23S rRNA, rpoB, gyrB i dnaK. Iako se primjena kombinacije više različitih molekularnih biljega pokazala pouzdanijom prilikom analizom mikrobiote (ROUX *i sur.*, 2011), danas se u znanosti i industriji i dalje primarno koristi isključivo jedan biljeg. Daleko najpopularniji molekularni biljeg je 16S rRNA gen. Radi se o genu dužine otprilike 1,5 kb koji sadrži kako konzervirane tako i varijabilne regije (Slika 5) (JANDA i ABBOTT, 2007). Prednosti ovog biljega je činjenica što se radi o „housekeeping" genu, prisutnom u gotovo svim bakterijama, koji je uvelike konzerviran i nepromjenjiv, kao i dostatne veličine za potrebe bioinformatike (BARTOŠ *i sur.*, 2024). Analiza mikrobiote sekvenciranjem 16S rRNA gena koristi se za identifikaciju taksonomskih skupina (rodova, vrsta) koje se teško mogu kultivirati konvencionalnim mikrobiološkom metodama, i koje se rijetko povezuju s razvojem infekcija u domaćina. Pritom se koriste knjižnice referentnih sekvenci 16S rRNA gena: u slučaju poklapanja sekvence dobivene analizom uzorka s onom referentne sekvence iz knjižnice mikroorganizama, ona se može svrstati u odgovarajuću taksonomsku skupinu.



Slika 5: Prikaz 16S rRNA gena s konzerviranim i varijabilnim regijama. Bakterijski gen za 16S ribosomalnu RNA sadrži devet hipervarijabilnih regija: V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8 i V9 (prilagođeno po Janda i Abbott, 2007).

Analiza mikrobiote metodom sekvenciranja 16S rRNA gena vrši se najčešće uz pomoć Illumina Miseq uređaja, jer se radi o brzoj i preciznoj tehnologiji sekvenciranja. Protokol procedure uključuje (1) ekstrakciju i izolaciju DNK, (2) pripremu knjižnice koristeći početnice za varijabilnu regiju, (3) PCR varijabilnih regija, (4) sekvenciranje pomoću MiSeq uređaja te (5) interpretacija rezultata pomoću Qiime programa (Slika 6).



Slika 6 Protokol 16S rRNA analize putem MiSeq uređaja (vlastitak slika izrađena u programu BioRender)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

- Dizajn istraživanja
- Protokol suplementacije
- Standardizacija čimbenika zabune
- Laboratorijska analiza
- Statistička analiza

3.1. Mikrobna zajednica kiseloga kupusa

Kako bi se što preciznije pratio učinak primjene kiseloga kupusa na crijevnu mikrobiotu, analiziran je sastav same mikrobiote kiseloga kupusa. Isti je određen uz pomoć 16S rRNA amplikon sekvenciranja na Illumina MiSeq uređaju u laboratoriju tvrtke Biomes (Biomes NGS d.o.o., Wildau, Njemačka). Za analizu je uzeto pet uzoraka kiseloga kupusa prema sljedećem protokolu uzorkovanja: dva uzorka slane otopine kiseloga kupusa jednake količine (10 ml), jedan uzorak 5 ml slane otopine kiseloga kupusa te dva uzorka koja sadrže 6 g i 3 g samog kiseloga kupusa uz dodatak 5 ml slane otopine. Uzorkovanje provedeno je u prostoru sobne temperature, na kojoj je kupus bio i skladišten, u nesterilnim uvjetima, no uz korištenje sterilnog instrumentarija (pincete, epruvete).

Slika 7: Uzorkovanje kiseloga kupusa za analizu mikrobne zajednice (vlastita fotografija)

3.2. KOMS 1 Studija dokazivanja koncepta („proof-of-concept study“)

3.2.1. Dizajn istraživanja

Pošto u znanstvenoj literaturi nisu pronađeni podaci koji bi bili mjerodavni za adekvatno koncipiranje istraživanja intervencijske studije s kiselim kupusom, prvo je koncipirana preliminarna studija dokazivanja koncepta („proof-of-concept study“).

Cilj studije bio je pratiti kohortu profesionalnih športaša tijekom kratkotrajne primjene kiseloga kupusa i učinak istog na njihovu CM i određene laboratorijske parametre. Prilikom koncipiranja istraživanja velik izazov bilo je odrediti trajanje intervencije, zbog čega su konzultirani iskusni biotehnolozi i nutricionisti. Nakon konzultacija odlučeno je provesti intervenciju u trajanju od 10 dana. Razlozi za tako relativno kratko trajanje intervencije u usporedbi sa sličnim istraživanjima s drugim fermentiranim namirnicama ili probioticima bili su dvostruki. S jedne strane je bila ideja kako će kiseli kupus, ukoliko se zaista radi o kvalitetnom sinbiotiku koji ne zahtjeva duže vremensko razdoblje za interakciju s CM domaćina, vrlo brzo dovesti do promjena unutar CM, kao što je to bio slučaj s drugim sinbioticima u sličnim istraživanjima (CANCELLO *i sur.*, 2019; LESSARD-LORD *i sur.*, 2024). A s druge strane pak se praćenje potencijalnih čimbenika zabune, kao što su prehrana, trening i san, činilo tehnički neizvedivo na duže vremenske relacije, recimo više tjedana, zbog vrlo dinamičnog rasporeda profesionalnih športaša.

Regrutacija ispitanika provedena je u suradnji s Hrvatskim olimpijskim odborom (HOO). Nakon javljanja zainteresiranih dragovoljaca proveden je inicijalni razgovor u ustanovi koja je provodila istraživanje (Centar za crijevni mikrobiom, CCM) gdje su dobili detaljno usmeno izlaganje o samom istraživanju, kao i pisane upute od strane tima istraživača. Pismeni obrazac informiranog pristanka potpisan je od strane ispitanika i istraživača nakon što su svi postupci, rizici i koristi u sklopu istraživanja temeljito objašnjeni. Ispitanicima su predani pribori za uzimanje uzorka stolice i kiseli kupus. Sastav tijela procijenjen je na inicijalnom sastanku prije intervencije bioimpedancijom od strane istraživača (Tanita MC-780, Tanita, Tokyo, Japan).

Ispitanici su upozoreni na važnost što manjeg odstupanja od uobičajenih životnih navika tijekom intervencije, s posebnim naglaskom na prehranu, kako bi se što preciznije mogao pratiti učinak intervencije na CM. U tu svrhu ispitanici su dobili uputu evidentirati kompletan unos hrane i suplementacije, vrijeme usnivanja i buđenja te treninge u dva vremenska razdoblja: prije početka intervenciju tijekom sedam dana i tijekom intervencije kroz deset dana. Kako bi se dodatno objektivizirale prehrambene navike prije i tijekom intervencije ispitanici su zamoljeni

ispuniti indeks prehrane športaša („Athlete Diet Index“, ADI) (CAPLING *i sur.*, 2019), upitnik razvijen za evaluaciju prehrane športaša i njezinih specifičnih obilježja, pogotovo u kontekstu trenažnog procesa.

Uzorkovanje stolice ispitanici su provodili samostalno uz pomoć podijeljenog pribora u dvije vremenske točke: dan prije početka i dan nakon završetka intervencije.

Intervencija se sastojala od dnevne suplementacije 250 grama kiseloga kupusa. Dnevna količina kiseloga kupusa određena je u dogovoru s nutricionistima uključenim u istraživanju. Odlučeno je kako se zbog jednostavnosti dnevna količina neće prilagođavati tjelesnoj masi ispitanika. Ispitanicima je bilo dopušteno imati varijacije u dnevnoj količini, kao i vremenu unosa tijekom dana tijekom trajanja istraživanja, ovisno o situaciji pojedinog dana. Postavljeno je jasno ograničenje kako kupus mora biti unesen svakodnevno te svaka dva dana mora biti konzumirano sveukupno 500 g (2 dnevne doze). Konzumirana količina i vrijeme unosa ispitanici su unosili u dnevnik istraživanja. Konzumacija kupusa mogla se vršiti ili samostalno ili u kombinaciji s drugim namirnicama nekog obroka (salata, prilog). Nuspojave konzumacije, specifično probavne prirode kao što su zatvor, proljev, nadutost, vjetrovi ili bolovi, ispitanici su bili upućeni bilježiti u dnevnik istraživanja.

Svi postupci povezani s ovom studijom provedeni su u skladu s Helsinškom deklaracijom i odobreni od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za zaštitu ljudskih ispitanika (referentni broj 380-59-10106-23-111/36) dana 27.03.2023. godine. Studija je registrirana na ClinicalTrials.gov pod brojem NCT06087146.

3.2.2. Ispitanici

Cilj istraživanja bio je regrutirati profesionalne športaše. Prilikom određivanja kriterija uključivanja nastojalo se maksimalno minimizirati potencijalan učinak čimbenika zabune na sastav CM. Tako je odlučeno je kako će se regrutirati profesionalne športaše različitih sportskih disciplina kako bi se eliminirao utjecaj specifične sportske discipline na CM kod ispitanika. S druge je također odlučeno je kako će ispitanici biti istog spola, kako bi se također eliminirao utjecaj spola na CM. Definirani su slijedeći kriteriji uključivanja: (1) odrasla dob, (2) muški spol, (3) status profesionalnog športaša prema standardima Olimpijskog odbora ili profesionalna angažiranost u neolimpijskim sportovima, (4) dobro opće fizičko zdravlje (procijenjeno godišnjim zdravstvenim pregledom medicinske komisije Olimpijskog odbora, sportske medicine ili primarne zdravstvene skrbi). Kriteriji za isključenje bili su: (1) primjena

antibiotika najmanje šest mjeseci prije ili tijekom intervencije, (2) suplementacija probioticima najmanje šest mjeseci prije ili tijekom intervencije, (3) uzimanje kronične medikamentozne terapije, (4) poznata alergija na kiseli ili sirovi kupus.

S obzirom na specifične uvjete tijekom sezone natjecanja, provedba istraživanja je kod svakog ispitanika organizirana tijekom faze priprema van sezone natjecanja.

Korištenjem statističkog programa (verzija 3.1.9.2; Sveučilište Heinrich Heine Dusseldorf, Dusseldorf, Njemačka) procijenjeno je kako bi broj od 10 ispitanika pružio odgovarajuću veličinu uzorka za razlike u uparenim uzorcima čime je osigurana adekvatna snaga istraživanja.

3.2.3. Protokol suplementacije

Kiseli kupus korišten u ovoj studiji proizveden je od strane Eko Imanje Zrno d.o.o., Vrbovec, Hrvatska. Kiseli kupus uzgojen je lokalno u uvjetima biodinamičke poljoprivrede. Isti je pripremljen na mjestu uzgoja, fermentacijom u otopini s 2% udjelom soli bez upotrebe konzervansa. Proizvod je po završetku procesa fermentacije pasteriziran. Kiseli kupus je pakiran u staklene staklenke veličine 500 grama. Svakom ispitaniku podijeljeno je pet staklenki kiseloga kupusa. Prije početka studije, testirana su njegova nutritivna i mikrobiološka svojstva u akreditiranom laboratoriju za ispitivanje sigurnosti hrane Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Nutritivne informacije navedene su u Tablici 10. U kulturama broj bakterija koje stvaraju mliječnu kiselinu (BMK) iznosio je $4{,}82 \cdot 10^3$ (±2,31) CFU/ml. Konvencionalnim mikrobiološkom metodama nije detektirana prisutnost štetnih mikroorganizma, uključujući *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae*, sulfit-reducirajuće klostridije i plijesni (<10 CFU/g).

Tablica 9: Nutritivni sastav 100g kiseloga kupusa korištenog u eksperimentalnom radu

Kalorije	80 kj/ 81 kcal
Proteini	0.86g
Ugljikohidrati	3.61g
Šećeri	0.2g
Masti	0.1g
Sol	1.99g

Vlakna	1.5g

J-kilojoule; kcal-kilokalorije;g-grami

3.2.4. Standardizacija tjelesne aktivnosti, sna i prehrane

Ispitanici su bilježili svoje životne navike, eksplicitno tjelesnu aktivnost, prehranu i san u dnevnik istraživanja u obliku virtualnog obrasca u programu Excel (Microsoft, Palo Alto, SAD) posebno dizajniranog za potrebe ovog istraživanja. Ispitanici su dnevnik istraživanja vodili u dva vremenska razdoblja: sedam dana prije početka intervencije i tijekom deset dana intervencije. Po pitanju tjelesne aktivnosti bilježeno je vrijeme treninga, odnosno početak i kraj, te oblik treninga. Što se tiče prehrane, ispitanici su bilježili vrijeme, količinu i jela ili specifične namirnice svakog obroka. Ukoliko ispitanici nisu bili u mogućnosti vaganjem odrediti količinu pojedinog jela ili namirnice, je za određivanje količine korišten Capnutra atlas hrane za ovaj dio Europe (NIKOLIĆ *i sur.*, 2018). Po pitanju sna ispitanici su unosili vrijeme odlaska na počinak i okvirno vrijeme buđenje.

Dobiveni podaci analizirani su od strane istraživača, a prehrambeni unos analizirali su nutricionisti uključeni u istraživanje. Isti je korištenjem USDA baza podataka (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Beltsville Human Nutrition Research Center) kvantificiran u smislu unosa energije (kilokalorija) i makronutrijenata u dvije vremenske faze, prije i tijekom istraživanja. Po pitanju tjelesne aktivnosti i sna izračunato je prosječan broj treninga tjedno te prosječno trajanje treninga dnevno, kao i prosječan broj sati sna prije i tijekom intervencije.

U svrhu dodatne standardizacije prehrambenog unosa prije i tijekom intervencije korišten je indeks prehrane športaša („Athlete Diet Indeks“, ADI). Radi se o validiranom i pouzdanom alatu za procjenu kvalitete prehrane u obliku virtualnog obrasca na engleskom jeziku (CAPLING *i sur.*, 2021). Razvijen je za evaluaciju prehrambenog unosa profesionalnih i rekreativnih športaša, uzimajući u obzir posebice unos nutrijenata važnih za ostvarivanje sportskih rezultata i druge specifičnosti aktivnog bavljenja sportom, te kao rezultat generira ocjenu cjelokupne prehrane športaša, ali i pojedinačnih komponenti iste (unos važnih nutrijenata primjerice) (CAPLING *i sur.*, 2019).

3.2.5. 16S rRNA NGS analiza crijevne mikrobiote

Ispitanici su, prema uputama, dan prije (nulti dan intervencije) i dan nakon intervencije (11. dan po početku intervencije) uzimali uzorke stolice pomoću pamučnog štapića s toaletnog

papira u svom domu. Štapići su konzervirani u do 1000 µL stabilizirajućeg DNA pufera na sobnoj temperaturi. Po dospijeću u laboratorij, uzorci stolice pohranjeni su na -20°C do sekvenciranja. Za proces lize stanica, uzorci su odmrznuti i centrifugirani na 4000 g tijekom 15 minuta. Potom je svakom uzorku dodano 650 µL prethodno zagrijanog pufera za lizu stanica, koji je zatim miješan vrtložnim miješalicom (vortex) 20 minuta. Nakon toga, nukleinske kiseline ekstrahirane su pomoću sustava za rukovanje tekućinama (Hamilton StarLine i Tecan EVO) korištenjem vakuumske i visokotlačne komore. Ekstrahirana DNK pohranjen je na -20°C do uporabe. Ostatak procesa slijedio je tipičan postupnik za analizu crijevne, odnosno fekalne mikrobiote (poglavlja 2.3.2.1. i 2.3.2.2.). Priprema DNK knjižnice („library preparation“) slijedila je protokol "16S Metagenomic Sequencing Library Preparation - Preparing 16S Ribosomal RNA Gene Amplicons for the Illumina MiSeq System". Za normalizaciju svih uzoraka korištena je fluorescentna boja i Biotek Synergy HTX čitač ploča za mjerenje koncentracije DNK te izračun potrebnog volumena razrjeđenja po uzorku. Svi opisani koraci gotovo su potpuno automatizirani korištenjem sustava za rukovanje tekućinama (Hamilton StarLine), što omogućuje paralelnu obradu uzoraka. Denaturiranje knjižnice i učitavanje uzoraka na MiSeq platformu provedeno je ručno prema Illumina protokolu za MiSeq Reagent Kit v3 (600-ciklus). Demultipleksiranje je izvršeno izravno na platformi korištenjem MiSeq Reporter Analysis softvera odmah nakon sekvenciranja, a dobivene FastQ datoteke generirane su za daljnju analizu podataka.

Za obradu i analizu sekvenci, upareni krajevi čitanja (Paired-End-Reads) s MiSeq platforme (2x300 ciklusa) spojeni su kako bi se rekonstruirale preklapajuće sekvence duljine od 430-460 baza. Kimerne i granične sekvence filtrirane su pomoću alata usearch uchime2_ref. SILVA 138.1 korištena je kao baza podataka za usearch uchime2_ref. Za taksonomsko usklađivanje, varijante sekvenci amplikona (ASV) određene su pomoću BLASTn (Nucleotide-Nucleotide BLAST 2.10.1+) prema SILVA 138.1 . Minimalni pragovi za taksonomsku raspodjelu bili su: koljeno: 75,0 %, razred: 78,5 %, red: 82,4 %, obitelj: 86,5 %, rod: 94,5 % i vrsta: 97,0 %. RefSeqs/Counts tablice izrađene su za sve uzorke koristeći Python paket Pandas 1.3.4. Taksonomski sastav mikrobnih zajednica utvrđen je iz ASV brojeva na razini koljena, roda i vrste. Daljnje bioinformatičke analize provedene su korištenjem Picrust2 (DOUGLAS *i sur.*, 2020).

Sekvence postavljene su u referentno stablo kako bi se odredio/procijenio broj kopija i indeks NSTI (najbliži sekvencirani takson). Sve sekvence studije s NSTI indeksom višim od 2 su isključene.

Ista metoda korištena je za analizu kiseloga kupusa i njegovih sastojaka (kupus, slana otopina) kako bi se utvrdio sastav mikrobioma prisutnog u proizvodu dostavljenom ispitanicima.

3.2.6. Laboratorijska analiza

Dan prije i nakon završetka intervencije provedena je laboratorijska analiza kako bi se potencijalno procijenile promjene u fiziologiji ispitanika povezane s suplementacijom kiselim kupusom. Provedene laboratorijske mjere uključivale su:

1. parametre krvne slike: eritrociti, leukociti, neutrofili, limfociti
2. parametre metabolizma: razine lipoproteina niske gustoće (LDL) u serumu, razine mokraćne kiseline
3. hormonalne parametre: štitnjače (TSH, FT3), testosteron, glukoza u krvi (inzulin, homeostatski model inzulinske rezistencije (HOMA-IR)), kortizol
4. vitamini: vitamin D, B12, folna kiselina

Laboratorijska analiza izvedena je u tercijarnoj zdravstvenoj ustanovi korištenjem EDTA ili citratne krvi, ovisno o pojedinoj mjeri, na standardnom laboratorijskom sustavu.

3.2.7. Statistička analiza

U svrhu obrade podataka svi online obrasci su kodirani, a podaci su uvezeni u SPSS (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Verzija 27.0. Armonk, NY: IBM Corp). Provedene su deskriptivne i inferencijalne statističke analize.

Podaci o prehrambenom unosu i životnim navikama bili su kvantitativne varijable. Nakon što su testirani za vrstu distribucije pomoću Kolmogorov-Smirnov testa, rezultati deskriptivnih analiza prikazani su kao medijan i interkvartilni raspon. Razlike u distribucijama kvantitativnih varijabli analizirane su Mann-Whitney U testom.

Također je provedena statistička analiza rezultata analiza crijevne mikrobiote. Za izračun α-raznolikosti, brojevi ASV-a su prorijeđeni na 10.000 očitanja po uzorku. Shannonov indeks odabran je kao metrika α-raznolikosti i izračunat je korištenjem funkcije raznolikosti koju pruža Qiime2 (BOLYEN *i sur.*, 2019). Osim toga, specifično su uspoređeni relativni udjele grupe *Lactobacillus* i koljena Proteobacteria prije i poslije intervencije s kiselim kupusom. Za testiranje hipoteza provedena je analiza ponovljenih mjerenja korištenjem R funkcije rmcorr (BAKDASH i MARUSICH, 2017). Izračunate p-vrijednosti prilagođene su višestrukim testiranjem

hipoteza korištenjem Benjamini i Hochberg korekcije, a statistička značajnost je pretpostavljena pri p-vrijednostima < 0,05 (ne-FDR) (BENJAMINI i HOCHBERG, 1995).

Kako bi se uzela u obzir uloga relativnih udjela ASV-a u sastavu CM, provedena je centrirana logaritamska (clr) transformacija u pripremi za daljnju obradu podataka. Kako je logaritam nule nedefiniran, svim podacima dodane su pseudokoličine koje iznosi najmanju nenultu vrijednost podijeljenu s 10. Kako bi se vizualizirale razlike u sastavu CM između dvije vremenske točke, provedena je analiza glavnih komponenti (PCA) korištenjem PCA funkcije R paketa FactoMineR (LÊ *i sur.*, 2008).

Za detekciju značajnih razlika u udjelima taksonomskih skupina i metaboličkih puteva nakon intervencije kiselim kupusom, provedena je analiza ponovljenih mjerenja korištenjem R paketa rmcorr (BAKDASH i MARUSICH, 2017). Analiza je provedena na razini taksonomskih skupina i metaboličkih puteva koristeći filtriranu tablicu sa stavkama s minimalnim pragom od 0,1% prosječnog relativnog udjela među svim uzorcima. Uzimajući u obzir sastav, primijenjena je centrirana logaritamska (clr) transformacija koristeći pseudokoličinu najmanje nenulte vrijednosti podijeljene s 10. Izračunate p-vrijednosti prilagođeni su za višestrukim testiranje hipoteza korištenjem Benjamini i Hochberg korekcije, a značajnost je pretpostavljena pri p-vrijednostima < 0,05 (ne-FDR). Za vizualizaciju je korišten R paket ggplot2 (VILLANUEVA i CHEN, 2019).

Za statističku obradu podatka proizašlih iz analiza pet uzoraka kiseloga kupusa korištena je PERMANOVA analiza (permutacijska multivarijantna analiza varijance) i Kolmogorov-Smirnov test u Pythonu korištenjem Pandas i SciKit biblioteka. Svrha statističke obrade podataka je bilo ispitati jesu li uzorci koji sadrže isključivo slanu otopinu slični jedni drugima i razlikuju li se značajno od uzoraka koji sadrže i kiseli kupus u pogledu distribucije relativnih udjela bakterija.

Kako bi se izračunao 95% interval pouzdanosti za vjerojatnost da tip stolice bude Bristol 3 ili 4 tijekom razdoblja od deset dana, provedeno je binomno testiranje u programskom jeziku R. U istom programskom jeziku, vjerojatnost da tip stolice Bristol bude 3 ili 4 za svaki dan izračunata je korištenjem hi-kvadrat testa. Statistički značajni rezultati smatrani s oni s p-vrijednostima manje od 0,5. Vjerojatnost ishoda dobiven je izračunavanjem omjera broja

ispitanika koji su imali tip stolice Bristol 3 ili 4 u odnosu na ukupan broj ispitanika za svaki dan.

3.3. KOMS 2 Potvrdna studija („follow-up study“)

3.3.1. Dizajn istraživanja

S obzirom na mali populacijski uzorak, studijom dokazivanja koncepta (KOMS1) dobiven je relativno velik broj statistički značajnih rezultata, čak i kad se korigira za lažnu pozitivnost. Zbog tog je odlučeno replicirati studiju te je učinjena potvrdna studija („follow-up study“), kako bi se pokušalo reproducirati pozitivne ishode intervencije na novom uzorku ispitanika sličnih karakteristika iste veličine. Dodatan cilj potvrdne studije bio je ispitati dugoročnost učinka intervencije dodatnom vremenskom točkom uzorkovanja stolice i određivanjem laboratorijskih parametara trideset dana nakon završetka intervencije (T40).

Ideja istraživanja je bila kao i u prvoj studiji pratiti učinak intervencije unutar kohorte aktivnih športaša tijekom kratkotrajne primjene kiseloga kupusa i učinak istog na njihov CM i laboratorijske parametre. Intervencija se tako nije razlikovala od one u prvoj studiji. Trajanje intervencije je bilo identično prvoj studiji od 10 dana. No, bitno je napomenuti s obzirom da se radi o fermentiranoj namirnici čiji mikrobiom, a posljedično i metabolom može varirati, kako se za razliku od prvog istraživanja radi o kiselom kupusu proizvedenom godinu kasnije, 2023. godine. Mjere ishoda su kao i u prvoj studiji bile promjene u CM i laboratorijskim parametrima. Analiza CM je provedena po istom protokolu u istom laboratoriju, kako bi se minimizirala eventualna odstupanja u rezultatima uvjetovana tehničkim aspektima procesa amplikon sekvenciranja, kao i po pitanju laboratorijskih parametara. Praćeni su isti čimbenici zabune: prehrana, trening i san identičnim dnevnikom istraživanja. Pored ADI korišteni su dodatni upitnici koji evaluiraju pridržavanje mediteranskoj prehrani, kako bi se dodatno objektivizirao prehrambeni unos tijekom intervencije. Isto kao i u prvoj studiji praćeni su promjene u stolici koristeći BTS i moguće nuspojave primjene kiseloga kupusa. Razlike i sličnosti između studije dokazivanja koncepta i potvrdne studije sumirane su u tablici niže.

Tablica 10 Razlike i sličnosti između studije dokazivanja koncepta i potvrdne studije provedenih u ovom istraživanju

	Razlike	**Sličnosti**
Intervencija	kiseli kupus iz 2023. godine	● 10 dana po 250g kupusa ● isti proizvođač kupusa
Ispitanici	uključivanje i rekreativnih športaša	● isti broj ispitanika ● ista dob i spol ispitanika ● kriteriji isključivanja
Ishodi	nova vremenska točka T40 nakon perioda ispiranja	● analiza CM u istom laboratoriju ● određivanje istih laboratorijskih parametara u istom laboratoriju
Čimbenici zabune	dva upitnika o pridržavanju mediteranskoj prehrani	● isti dnevnik istraživanja ● ADI

Regrutacija je vršena iz okoline istraživača, kao i suradnji sa sportskim klubovima te nutricionistima koji se profesionalno bave prehranom športaša. Za razliku od prve studije, uključivani su i rekreativni športaši kako bi se olakšao i ubrzao proces regrutacije. Broj ispitanika bio je isti kao i u prvoj studiji.

Slično kao i u prvom istraživanju proveden je inicijalni razgovor u ustanovi koja je provodila istraživanje (Centar za crijevni mikrobiom, CCM) gdje su potencijalni ispitanici dobili detaljno usmeno izlaganje o samom istraživanju, kao i pisane upute od strane tima istraživača. Pismeni obrazac informiranog pristanka potpisan je od strane ispitanika i istraživača nakon što su svi postupci, rizici i koristi istraživanja temeljito pojašnjeni. Ispitanicima su predani pribori za

uzimanje uzorka stolice kao i sam istraživački materijal, kiseli kupus. Sastav tijela procijenjen je na inicijalnom sastanku prije intervencije bioimpedancijom od strane istraživača (Tanita MC-780, Tanita, Tokyo, Japan).

Ispitanici su na inicijalnom razgovoru upozoreni na važnost što manjeg odstupanja od uobičajenih životnih navika tijekom intervencije, posebice po pitanju prehranu, kako bi se što preciznije mogao pratiti učinak intervencije na CM. Zbog tog su ispitanici instruirani pratiti unos hrane, suplementacije, trajanje sna te fizičku aktivnost prije početka intervenciju tijekom tri do četiri dana i tijekom intervencije. Vrijeme praćenje prije početka intervencije je skraćena kako bi se olakšalo sudjelovanje ispitanika ponukano iskustvom prve studije. U svrhu dodatne objektivizacije prehrambenog unosa korištena su tri upitnika: indeks prehrane športaša (ADI), upitnik o pridržavanju mediteranskoj prehrani („questionnaire on mediterranean diet adherence“, MEDAS) i kratki upitnik o pridržavanju mediteranskoj prehrani i održivosti prehrane („short questionnaire on mediterranean diet adherence and diet sustainability“, SQM).

Kako bi se utvrdile dugotrajne posljedice intervencije, uzorkovanje stolice ispitanici su provodili samostalno uz pomoć podijeljenog pribora u tri vremenske točke: dan prije početka i dan nakon završetka intervencije, te mjesec dana nakon završetka intervencije, nakon razdoblja ispiranja („wash-out“).

Intervencija se sastojala od dnevne suplementacije 250 grama kiseloga kupusa. Pošto se radi o potvrdnoj studiji, dnevna količina kiseloga kupusa nije mijenjana naspram prve studije . Ponovno je odlučeno kako se zbog logističkih razloga dnevna količina neće prilagođavati tjelesnoj masi ispitanika. No, ponovno je ispitanicima bilo dopušteno imati varijacije u dnevnoj količini, kao i vremenu unosa tijekom dana tijekom trajanja istraživanja. Ponovljen je uvjet kako kupus mora biti unesen svakodnevno te svaka dva dana mora biti konzumirano sveukupno 500 g (2 dnevne doze). Ispitanici su konzumiranu količina i vrijeme unosa unosili u dnevnik istraživanja. Konzumacija kupusa mogla se vršiti ili samostalno ili u kombinaciji s drugim namirnicama nekog obroka (salata, prilog). Nuspojave konzumacije, specifično probavne prirode kao što su zatvor, proljev, nadutost, vjetrovi ili bolovi, ispitanici su bili upućeni bilježiti u dnevnik istraživanja tijekom cijelog trajanja studije.

Svi postupci povezani s ovom studijom provedeni su u skladu s Helsinškom deklaracijom i odobreni od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za zaštitu ljudskih ispitanika (referentni broj 380-59-10106-23-111/36) dana 27.03.2023. godine. Studija je registrirana na ClinicalTrials.gov pod brojem NCT06087146.

3.3.2. Ispitanici

Cilj istraživanja bio je, kao i u studiji dokazivanja koncepta, regrutirati aktivne športaše, kako bi se ista što vjernije replicirala. No, s obzirom na poteškoće u regrutaciji ispitanika u prvom istraživanju kriterij uključivanja statusa profesionalnog športaša ili profesionalno bavljenje sportom ublažen je na generalno redovito bavljenje sportom, makar i ono rekreativno. Ponovno su uključeni športaši različitih disciplina kako bi se umanjio utjecaj pojedinog sporta na CM. Dok je ponovno kriterij uključivanja bio muški spol, ovaj put je izričito ženski spol naveden kao kriterij isključivanja. Kako bi se što bolje repliciralo prvo istraživanje, medijan dobi prvog istraživanja korišten je kao kriterij uključivanja.

Zaključno su ovako glasili kriteriji uključivanja: (1) dob oko 30 godina, (2) muški spol, (3) redovno bavljenje sportom na tjednoj razini, (4) dobro opće fizičko zdravlje (procijenjeno godišnjim zdravstvenim pregledom medicine rada (sistematski pregled), medicinske komisije Olimpijskog odbora, sportske medicine ili primarne zdravstvene skrbi).

Kriteriji za isključenje bili su identični kao i u prvom istraživanju i glasili su: (1) primjena antibiotika najmanje šest mjeseci prije ili tijekom intervencije, (2) suplementacija probioticima najmanje šest mjeseci prije ili tijekom intervencije, (3) uzimanje kronične medikamentozne terapije, (4) poznata alergija na kiseli ili sirovi kupus.

Kako profesionalni športaši više nisu bili u fokusu istraživanja, se prilikom planiranja vremena trajanja istraživanja nije vodilo rasporedom priprema ili natjecanja.

Veličina uzorka ispitanika bazirana je na broju iz studije dokazivanja koncepta je iznosila 10 ispitanika.

3.3.3. Protokol suplementacije

Za potrebe potvrdne studije korišten je kiseli kupus istog proizvođača kao i u studiji dokazivanja koncepta, Eko Imanje Zrno d.o.o., Vrbovec, Hrvatska. Radi se pasteriziranom kiselom kupusa uzgojenom lokalno u uvjetima biodinamičke poljoprivrede. Kiseli kupus je proizveden na isti način, po identičnoj recepturi, od strane istog osoblja, na istom mjestu, fermentacijom u otopini s 2% udjelom soli bez upotrebe konzervansa. S tehnološke strane je jedina razlika bila ta što je kupus uzgojen i proizveden godinu kasnije, 2023. godine.

Svakom ispitaniku podijeljeno je pet staklenki kiseloga kupusa veličine 500 grama. Nutritivna i mikrobiološka svojstva nisu ponovno testirana, već su korišteni rezultati analize istog kupusa proizvedenog godinu prije, 2022. godine.

3.3.4. Standardizacija tjelesne aktivnosti, sna i prehrane

Kako bi se eliminirali najvažniji čimbenici zabune, ispitanici su bilježili svoje životne navike, eksplicitno tjelesnu aktivnost, prehranu i san u dnevnik istraživanja u obliku virtualnog obrasca u programu Excel (Microsoft, Palo Alto, SAD), dizajniranog za potrebe studije dokazivanja koncepta. Ispitanici su dnevnik istraživanja vodili isto kao u prvom istraživanju u dva vremenska razdoblja: sedam dana prije početka intervencije i tijekom deset dana intervencije. Po pitanju tjelesne aktivnosti bilježeno je vrijeme treninga, odnosno početak i kraj, te oblik treninga. Što se tiče prehrane, ispitanici su bilježili vrijeme, količinu i jela ili specifične namirnice svakog obroka. Ukoliko ispitanici nisu bili u mogućnosti vaganjem odrediti količinu pojedinog jela ili namirnice, je za određivanje količine korišten Capnutra atlas hrane za ovaj dio Europe (NIKOLIĆ *i sur.*, 2018). Po pitanju sna ispitanici su unosili vrijeme odlaska na počinak i okvirno vrijeme buđenje.

Dobiveni podaci analizirani su od strane istraživača, a prehrambeni unos analizirao je nutricionisti uključen u istraživanje. Prehrambeni unos je korištenjem USDA baza podataka (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Beltsville Human Nutrition Research Center) kvantificiran u smislu unosa energije (kilokalorija) i makronutrijenata u dvije vremenske faze, prije i tijekom istraživanja. Po pitanju tjelesne aktivnosti i sna izračunato je prosječan broj treninga tjedno te prosječno trajanje treninga dnevno, kao i prosječan broj sati sna prije i tijekom intervencije.

U svrhu dodatne standardizacije prehrambenog unosa prije i tijekom intervencije korišten je indeks prehrane športaša („Athlete Diet Indeks“, ADI) te dva upitnika o pridržavanju mediteranskoj prehrani: upitnik o pridržavanju mediteranskoj prehrani („questionnaire on mediterranean diet adherence“, MEDAS) i kratki upitnik o pridržavanju mediteranskoj prehrani i održivosti prehrane („short questionnaire on mediterranean diet adherence and diet sustainability“, SQM).

Indeks prehrane športaša je validiran i pouzdan alat za procjenu kvalitete prehrane u obliku virtualnog obrasca na engleskom jeziku (CAPLING *i sur.*, 2021). Razvijen je za evaluaciju prehrambenog unosa profesionalnih i rekreativnih športaša, uzimajući u obzir posebice unos nutrijenata važnih za ostvarivanje sportskih rezultata i druge specifičnosti aktivnog bavljenja sportom, te kao rezultat generira ocjenu cjelokupne prehrane športaša, ali i pojedinačnih komponenti iste (unos važnih nutrijenata primjerice) (CAPLING *i sur.*, 2019).

U svrhu dodatne objektivizacije prehrambenog unosa, dodani su upitnici koji ispituju pridržavanje mediteranskoj prehrani. Mediteranska prehrana je uz prehranu baziranu na biljnim namirnicama najoptimalnija po sastav i funkcionalnost CM, odnosno povećava njezinu raznolikost i povećava sposobnost proizvodnja SCFA (SOLDÁN *i sur.*, 2024), a uz to je istraživanje provedeno u podneblju u kojem se ista često prakticira. Korištena su dva upitnika za evaluaciju pridržavanja mediteranskoj prehrani. Prvi je upitnik za procjenu pridržavanja mediteranskoj prehrani ("Mediterranean Diet Adherence Screener", MEDAS). MEDAS je razvijen u sklopu PREDIMED studije, pionirske studije velikih razmjera koja je istraživala učinak mediteranske prehrane u prevenciji kroničnih bolesti, ali i kao nutritivnu intervenciju (SCHRÖDER *i sur.*, 2011). Upitnik se sastoji od 14 pitanja o konzumaciji glavnih skupina namirnica u sklopu mediteranske prehrane, kao što su maslinovo ulje, crno vino i grahorice (GARCÍA-CONESA *i sur.*, 2020). MEDAS validiran je na više različitih populacija dijelom svijeta uključujući i Hrvatsku, i pokazao se kao pouzdan alat za brzu procjenu pridržavanja mediteranskoj prehrani (BOTTCHER *i sur.*, 2017; HEBESTREIT *i sur.*, 2017; PAPADAKI *i sur.*, 2018). Uz to se pokazalo kako su više vrijednosti MEDAS-a pozitivno povezane s vrijednostima lipoproteina kolesterola visoke gustoće („high-density lipoprotein cholesterol", HDL), a negativno s indeksom tjelesne mase (BMI), opsegom struka, vrijednostima triglicerida, glukoze u krvi natašte, i omjerom ukupnog kolesterola i HDL-a, zbog čega je iznimno pogodan za kliničku primjenu (SCHRÖDER *i sur.*, 2011). Pošto MEDAS nije u potpunosti prilagođen hrvatskoj gastronomskoj tradiciji i uz to dodjeljuje bodove i za konzumaciju alkohola, koja ima štetne učinke po CM (LEE i LEE, 2021), korišten je još jedan upitnik o pridržavanju mediteranskoj prehrani i to kratki upitnik o pridržavanju mediteranskoj prehrani i održivosti prehrane („short questionnaire on mediterranean diet adherence and diet sustainability", SQM). Ovaj upitnik sastoji se od osam pitanja koja se tiču unosa najvažnijih skupina namirnica unutar mediteranske prehrane (žitarice, voće, povrće, maslinovo ulje) te se pokazao pouzdanim u evaluaciji pridržavanju mediteranskoj prehrani (RUGGERI *i sur.*, 2022).

3.3.5. 16S rRNA NGS analiza crijevne mikrobiote

Ispitanici su, prema uputama, dan prije (nulti dan intervencije), dan nakon intervencije (11. dan po početku intervencije) i mjesec dana nakon intervencije (30. dan po završetku intervencije) uzimali uzorke stolice pomoću pamučnog štapića s toaletnog papira u svom domu.

Postupci povezani sa skladištenjem uzorka i procesom samog amplikon sekvenciranja bili su identični onima u studiji dokazivanja koncepta, raspisanim pod 3.2.5..

3.3.6. Laboratorijska analiza

Uzorci za određivanje laboratorijskih parametara, kao i crijevni mikrobiom, uzimani su ovoj studiji u tri vremenske točke: dan prije, dan nakon i mjesec dana nakon završetka intervencije. Izbor laboratorijskih parametara vršen je na temelju rezultata studije dokazivanja koncepta. Iz mnoštva parametara učinjenih u studiji dokazivanja koncepta, odabrani su svi laboratorijski parametri koji su bili statistički značajni.

Tako su u ovoj studiji laboratorijske mjere uključivale:

1. parametre krvne slike: leukociti, neutrofili, i limfociti
2. vitamini: vitamin B12 i folna kiselina

Laboratorijska analiza izvedena je u istoj tercijarnoj zdravstvenoj ustanovi kao i u prvoj studiji, korištenjem EDTA ili citratne krvi, ovisno o pojedinoj mjeri, na standardnom laboratorijskom sustavu.

3.3.7. Statistička analiza

Statistička obrada podataka vršena je kao po istom principu kao i u studiji dokazivanja koncepta. Online obrasci su kodirani, a podaci su uvezeni u SPSS (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Verzija 27.0. Armonk, NY: IBM Corp), te su protom provedene deskriptivne i inferencijalne statističke analize.

Zbog razlika u dizajnu istraživanja (vidi Tablica 10) došlo je manjih izmjena u statističkoj analizi podataka, konkretno po pitanju analiza rezultata mjera ishoda. Naime, čimbenici zabune kao što su prehrambeni unos i druge životne navike analizirane su ponovno u dva vremenska razdoblja, prije i tijekom intervencije. Razlike u prosjecima vrijednosti čimbenika zabune predstavljale su kvantitativne varijable, te su nakon testiranja vrste distribucije, te su analizirane uparenim t testom.

No, mjere ishoda, CM i laboratorijski parametri, praćene su u tri vremenske točke.

Rezultati laboratorijske obrade testirani su za vrstu distribucije pomoću Shapiro-Wilk testom. Razlike u distribuciji u tri vremenske točke su ovisno o normalnosti distribucije testirani ili ANOVA testom ponovljenih mjera ili Friedman testom.

Statistička analiza rezultata analiza CM provedena je kao na identičan kao i u prvoj studiji, samo ovaj put s tri vremenske točke. Za izračun α-raznolikosti, brojevi ASV-a su prorijeđeni na 10.000 očitanja po uzorku. Shannonov indeks odabran je kao metrika α-raznolikosti i

izračunat je korištenjem funkcije raznolikosti koju pruža Qiime2 (BOLYEN *i sur.*, 2019). Za testiranje hipoteza provedena je analiza ponovljenih mjerenja korištenjem R funkcije rmcorr (BAKDASH i MARUSICH, 2017). Izračunate p-vrijednosti prilagođene su višestrukim testiranjem hipoteza korištenjem Benjamini i Hochberg korekcije, a statistička značajnost je pretpostavljena pri p-vrijednostima $< 0,05$ (ne-FDR) (BENJAMINI i HOCHBERG, 1995).

Kako bi se uzela u obzir uloga relativnih udjela ASV-a u sastavu CM, provedena je centrirana logaritamska (clr) transformacija u pripremi za daljnju obradu podataka. Kako je logaritam nule nedefiniran, svim podacima dodane su pseudokoličine koje iznosi najmanju nenultu vrijednost podijeljenu s 10. Kako bi se vizualizirale razlike u sastavu CM između dvije vremenske točke, provedena je analiza glavnih komponenti (PCA) korištenjem PCA funkcije R paketa FactoMineR (LÊ *i sur.*, 2008).

Za detekciju značajnih razlika u udjelima taksonomskih skupina i metaboličkih puteva između tri vremenske točke, provedena je analiza ponovljenih mjerenja korištenjem R paketa rmcorr (BAKDASH i MARUSICH, 2017). Analiza je provedena na razini taksonomskih skupina i metaboličkih puteva koristeći filtriranu tablicu sa stavkama s minimalnim pragom od 0,1% prosječnog relativnog udjela među svim uzorcima. Uzimajući u obzir sastav, primijenjena je centrirana logaritamska (clr) transformacija koristeći pseudokoličinu najmanje nenulte vrijednosti podijeljene s 10. Izračunate p-vrijednosti prilagođeni su za višestrukim testiranje hipoteza korištenjem Benjamini i Hochberg korekcije, a značajnost je pretpostavljena pri p-vrijednostima $< 0,05$ (ne-FDR). Za vizualizaciju je korišten R paket ggplot2 (VILLANUEVA i CHEN, 2019).

Podaci o stolici obrađeni su isto kao i u prvoj studiji. Za vjerojatnost tipa stolice Bristol 3 ili 4 učinjeno je binomno testiranje u programskom jeziku R korištenjem hi-kvadrat testa. Vjerojatnost ishoda dobiven je izračunavanjem omjera broja ispitanika koji su imali tip stolice Bristol 3 ili 4 u odnosu na ukupan broj ispitanika za svaki dan. Statistički značajni rezultati smatrani s oni s p-vrijednostima manje od 0,5.

3.4. KOMS3 Longitudinalna studija

3.4.1. Dizajn istraživanja

Kako bi se pokušala detektirati dinamika promjena unutar CM tijekom trajanje intervencija, odlučno je provesti longitudinalnu studiju. Ispitanik bi prošao identičan protokol onome kao ispitanici u studiji dokazivanja koncepta i potvrdnoj studiji. Intervencija bi bila provedena na isti način kao i prve dvije studije. Ispitanik bi , uz svoju redovnu prehranu konzumirao tijekom 10 dana dodatno i 250 g kiseloga kupusa istog porijekla i proizvođača, kao i prve dvije studije. Kiseli kupus je proizveden 2023. godine, kao i u potvrdnoj studiji. No, pošto je cilj studije istražiti kako se CM mijenja iz dana u dan kao odgovor na primijenjenu intervenciju, planirano je svakodnevno uzimanje uzoraka stolice za amplikon sekvenciranje tijekom trajanja intervencije. Tako će se dobiti informacije o sastavu i funkcionalnosti CM u 10 uzastopnih vremenskih točki (T1, 2, …10), čime se više saznati o dinamici promjena unutar CM uslijed konzumacije kiseloga kupusa, koje su viđene u prijašnjim studijama. Dodatan cilj ove studije je pratiti ponašanje relativnih udjela taksonomskih skupina koje su se izdvojile u ranijim studijama, dokazivanja koncepta i potvrdnoj studiji, kao posljedice konzumacije kiseloga kupusa. Cilj je promjene u radu probave u vidu tipa stolice (BTS) i nuspojava korelirati s taksonomskim promjenama na dnevnoj razini.

S obzirom na razlike u konceptu istraživanja, mjere ishoda i čimbenici zabune razlikovali bi se od prijašnjih istraživanja. Glavna mjera ishoda su promjene u amplikon sekvenciranoj CM ispitanika kroz vrijeme trajanje intervencije. S obzirom na višestruko veći broj analiza CM po ispitaniku odlučeno je ovo istraživanje provesti na samo jednom ispitaniku. Ovu odluku je potvrdilo negativno iskustvo s neadekvatnim uzorcima stolice u obje prethodne studije. Pošto je cilj istraživanja pratiti promjene u CM iz dana u dan, nemogućnost amplikon sekvenciranja uzorke stolice zbog neadekvatnog uzorka ozbiljno bi kompromitiralo istraživanje. Analiza CM je provedena na isti način i u istom laboratoriju kao prethodne dvije studije, kako bi se uklonili eventualni tehnološki uvjetovani razlike u rezultatima među studijama. Postupak je raspisan pod 2.5. Pošto je planirano uključiti samo jednog ispitanika u istraživanje i zbog financijskih i logističkih razloga odustalo se od praćenja promjena laboratorijskih parametara kao mjera ishoda intervencije. No, promjene u radu probave putem Bristol skale stolice i potencijalne nuspojave su i dalje praćene tijekom istraživanja kroz dnevnik istraživanja, koji ispitanik samostalno ispunjava. Čimbenici zabune praćeni su samo tijekom intervencije. Odabrani su isti čimbenici zabune kao u prve dvije studije: prehrana, trening i san kroz dnevnik istraživanja identičan onom iz prve dvije studije. Pošto usporedba čimbenika zabune prije i tijekom

intervencija nije potreban s obzirom na longitudinalnost istraživanja, nisu korišteni upitnici za dodatnu evaluaciju prehrambenog unosa.

U svrhu pojednostavljivanja regrutacije ispitanika i s ciljem mogućnost kontrole promjena u CM, odlučeno je ispitanika regrutirati među dosadašnjim sudionicima studija. Tad su ispitanici uključeni po kriterijima raspisanim pod 4.3.2. Zbog brojnih obaveza i užurbanog stila života, odlučeno je ipak uključiti rekreativnog aktivnog športaša među dosadašnjim ispitanicima, s idejom kako bi se on bolje i lakše mogao pridržavati intervenciji i zahtjevima istraživanja. Intervencija je planirana minimalno tri mjeseca nakon prve intervencije, kako se u CM ne bi detektirali eventualni zaostali signale prethodno provedene intervencije.

Nakon odabira s ispitanikom je proveden informativni razgovor te ponovljene upute u vezi intervencije i postupaka povezanih sa sudjelovanjem u istraživanju. Sastav tijela nije ponovno određivan. Naglašeno je kako se količina od 250g kiseloga kupusa obavezno mora konzumirati svaki dan, bez dnevnih varijacija u količini, jer se u suprotnom slučaju ne mogu mjeriti dnevne promjene izazvane intervencijom. Istaknuto je također važnost minimalnih promjena u životnim navikama tijekom trajanja intervencije. Otkloni od uobičajenog u prehrani, tjelovježbi i snu mogli bi značajno utjecati na rezultate u pogledu CM, čime bi se izgubila vrijednost longitudinalnog istraživanja intervencije.

Svi postupci povezani s ovom studijom provedeni su u skladu s Helsinškom deklaracijom i odobreni od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za zaštitu ljudskih ispitanika (referentni broj 380-59-10106-23-111/36) dana 27.03.2023. godine. Studija je registrirana na ClinicalTrials.gov pod brojem NCT06087146.

3.4.2. Obrada podataka

Po završetku studije podaci iz dnevnika istraživanja uvezeni su u SPSS (IBM Corp. Released 2020. IBM SPSS Statistics for Macintosh, Verzija 27.0. Armonk, NY: IBM Corp). Pošto je u ovoj studiji uključen samo jedan ispitanik provedena je samo deskriptivna statistička analiza. Prehrambeni unos, san te tjelesna aktivnost izražen je kvantitativno za svaki dan trajanja intervencije. Prehrambeni unos je izračunat na temelju podataka iz dnevnika prehrane kojeg je ispitanik ispunjavao.

Deskriptivna statistička analiza rezultata analiza CM provedena je kao na identičan kao i u prvoj studiji, samo ovaj put s deset vremenskih točaka. Za izračun α-raznolikosti, brojevi ASV-a su prorijeđeni na 10.000 očitanja po uzorku. Shannonov indeks entropije i obrnuti Simpsonov indeks odabrani su kao metrika α-raznolikosti i izračunati su korištenjem funkcije raznolikosti

koju pruža Qiime2 (BOLYEN *i sur.*, 2019). Kako bi se vizualizirale razlike u sastavu CM između vremenskih točaka tijekom intervencije u vidu β-raznolikosti, provedena je analiza glavnih komponenti (PCA) korištenjem PCA funkcije te je izračunata Bray-Curtis različitost između uzoraka putem R paketa FactoMineR (LÊ *i sur.*, 2008).

Kako bi se uzela u obzir uloga relativnih udjela ASV-a u sastavu CM, provedena je centrirana logaritamska (clr) transformacija u pripremi za daljnju obradu podataka. Kako je logaritam nule nedefiniran, svim podacima dodane su pseudokoličine koje iznosi najmanju nenultu vrijednost podijeljenu s 10.

4. REZULTATI

- Mikrobna zajednica kiseloga kupusa
- Studija dokazivanja koncepta
- Potvrdna studija
- Longitudinalna studija

4.1. Mikrobna zajednica-kiseloga kupusa

Amplikon sekvenciranjem gena 16S rRNA pet uzoraka kiseloga kupusa detektirano je 1416 različitih taksonomskih skupina („operational taxonomic units“, OTU) iz ukupno 515.608 očitanih sekvenci, s prosjekom od 103.121,6±53.380,8 po uzorku. Deset najbrojnijih bakterijskih rodova, poredanih prema relativnim udjelima, bili su: *Bacteroides, Blautia, Faecalibacterium, Prevotella, Ruminococcus, Roseburia, Agathobacter, Fusicatenibacter, Lachnospiraceae (nespecifične), Subdoligranulum*. Relativni udjeli ovih deset rodova činile su oko 50% sveukupne bakterijske zajednice četiri od pet uzoraka (svi uzorci slane otopine i uzorak s 50% kiseloga kupusa). Sve navedene rodove ubrajamo u obligatne anaerobne bakterije i iznimno su metabolički aktivni. Korištenjem enzima aktivnih na ugljikohidratima („carbohydrate active enzymes“, CAZymes), poput glikozidnih hidrolaza, i fermentativnih enzima, kao što su butiratna i acetatna kinaza, ovi rodovi su poznati po proizvodnji SCFA poput butirata (HISENI *i sur.*, 2021). Rezultati PERMANOVA analize (F-statistika=2,735, p-vrijednost=0,095) ukazali su na određene razlike u sastavu mikrobne zajednice između uzoraka koji sadrže kiseli kupus i onih koji sadrže samo slanu otopinu, no te razlike nisu bile značajne. Kolmogorov-Smirnov test s dva uzorka pokazao je kako se sastav mikrobiote uzoraka slane otopine nije razlikovao međusobno (statistika=0,042, p-vrijednost=0,171), ali se razlikovao u usporedbi s uzorcima koji su sadržavali i kupus (statistika=0,147, p-vrijednost<0,001). Ovaj test je također potvrdio kako se sastav mikrobne zajednice između dva uzorka s kupusom i međusobno razlikovao (statistika=0,188, p-vrijednost<0,001), što znači da na sastav mikrobiote kupusa utječe kako omjer kupusa, ali i omjer slane otopine unutar nekog uzorka.

4.2. KOMS 1 Studija dokazivanja koncepta („proof-of-concept study“)

Prilikom izrade studijskog protokola i obrade podataka korištene su CONSORT smjernice za pilot studije kao i SPIRIT smjernice za intervencijska istraživanja (CHAN *i sur.*, 2013; THABANE i LANCASTER, 2019). Studija je provedena tijekom šest mjeseci u partnerskoj suradnji nekoliko organizacija: Centra za crijevni mikrobiom u Zagrebu, Fakultet za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju, Sveučilišta u Zagrebu i laboratorija Biomes NGS GmbH, Wildau, Njemačka.

4.2.1. Ispitanici

Podaci o ispitanicama prikazani su u Tablici 10, uključujući sociodemografske karakteristike kao što su spol, dob, vrsta sporta i godine bavljenja sportom. Za klasifikaciju ispitanika prema razini tjelesne aktivnosti i sportskim postignućima, korištene su smjernice „Participant Classification Framework“ (MCKAY *i sur.*, 2022). Iako je inicijalno planirana provedba

istraživanja isključivo na muškim športašima, zbog velikih izazova u pronalasku ispitanika među muškim profesionalnim športašima, istraživači su bili primorani nakon višemjesečnog prisilnog prekida uključivanja ispitanika prekršiti jedan od kriterija uključivanja i uključiti i žensku ispitanicu.

Tablica 11 Karakteristike ispitanika

Ispitanik	**Spol**	**Dob**	**Sport**	**Godine u sportu**	**Klasifikacija športaša**
1	M	27	karate	20	Razina 5
2	M	37	stolni tenis	31	Razina 5
3	F	28	bodybuilding	20	Razina 2
4	M	38	triatlon	30	Razina 3
5	M	30	kajak/kanu	23	Razina 5
6	M	26	triatlon	13	Razina 2
7	M	27	kajak/kanu	19	Razina 5
8	M	23	nogomet	18	Razina 3
9	M	27	bodybuilding	12	Razina 4
10	M	27	kajak/kanu	21	Razina 5
Prosjek, SD		29 ± 4,81		20,7 ± 6,18	3,9±1,22

M: muški, F: ženski, SD: standardna devijacija

Antropološke mjere (visina i tjelesna masa) te varijable sastava tijela (nemasna tjelesna masa e, skeletna mišićna masa, postotak tjelesne masti i masno tkivo) prikazane su u Tablici 12. Podaci za ispitanicu 3 nisu mogli biti preuzeti s mjernog uređaja zbog tehničkih problema.

Tablica 12: Mjere i sastav tijela ispitanika

Ispitanik	Visina (cm)	Tjelesna masa (kg)	FFM (kg)	SMM (kg)	BF (%)	FM (kg)
1	193.0	88.4	76.2	44.8	13.8	12.2
2	185.0	80.9	69.7	40.3	13.9	11.2
3	168.3	60.0	-	-	-	-
4	177.5	73.0	64.5	37.9	11.7	8.5
5	190.0	99.0	80.8	48.2	18.4	18.2
6	190.0	87.2	79.3	48.6	9.1	7.9
7	188.0	99.1	77.0	44.5	22.3	22.1
8	180.0	79.4	66.1	39.0	16.8	13.3
9	185.0	108.5	89.3	58.3	17.7	19.2
10	184.0	87.5	71.2	41.5	18.6	16.3

FFM, nemasna tjelesna masa; SMM, skeletna mišićna masa; BF, postotak tjelesne masti; FM, masno tkivo

4.2.2. Tjelesna aktivnost i san

Tjelesna aktivnost i san pratili su se prije i tijekom intervencije. Podaci o prosječnoj učestalosti i prosječnom trajanju treninga te prosječnog količini sna prikazani su u Tablici 13. Nisu registrirane statistički značajne razlike prije i tijekom intervencije, no količina je sna u prosjeku bila veća tijekom intervencije.

Tablica 13: Tjelesna aktivnost i san ispitanika

	Prije intervencije (prosjek, SD)	Tijekom intervencije (prosjek, SD)	Razlika (p-vrijednost)
Broj treninga tjedno	6,22±2.28	6,22±2,63	1,000

Trajanje treninga (min. dnevno)	54,22±36,94	61,61±38,13	0,104
San (sati)	7,74±0,77	8,06±0,82	0,073

SD: standardna devijacija

4.2.3. Prehrana

Svi aspekti prehrambenog unosa praćeni su prije i tijekom intervencije. Podaci o prosječnom dnevnom prehrambenom unosu prikazani su u Tablici 13. Osim značajnog povećanja dnevnog unosa vlakana po 1000 kcal tijekom intervencije, nisu registrirane druge statistički značajne razlike u prehrambenom unosu prije i tijekom intervencije. Ove promjene mogu se pripisati unosu kiseloga kupusa, koji je sam po sebi bogat vlaknima, ali siromašan kalorijama. Zbog određenih specifičnih prehrambenih navika ispitanika (npr. brza hrana i gotova hrana za koju je teško dobiti nutritivne informacije) i neslaganja u nutritivnim informacijama prisutnim u tablicama sastava hrane i deklaracijama hrane, navedeni rezultati prehrambenog unosa mogu biti sagledani isključivo kao procjene prehrambenog unosa i trebaju biti tumačeni s oprezom.

Tablica 14: Nutritivni unos hrane ispitanika

	Prije intervencije (prosjek, SD)	**Tijekom intervencije** (prosjek, SD)	**Razlika** (p-vrijednost)
Energetski unos (kcal)	2741,59 ± 660,90	2747,72 ± 1017,84	0,983
Unos proteina (g)	158,29 ± 42,08	160,49 ± 55,55	0,868
Unos proteina (g/kg)	1,84 ± 0,29	1,84 ± 0,47	0,995
Unos ugljikohidrata (g)	293,39 ± 100,09	267,14 ± 76,32	0,288
Unos ugljikohidrata (g/kg)	3,48 ± 1,22	3,14 ± 0,95	0,208
Unos masti (g)	94,63 ± 19,10	97,25 ± 38,06	0,813

Unos masti (% energetskog unosa)	31,39 ± 3,41	31,66 ± 2,14	0,854
Unos vlakana (g)	21,91 ± 5,89	25,09 ± 5,02	0,111
Unos vlakana (g/1000 kcal)	8,20 ± 2,28	9,98 ± 3,10	0,030*

SD: standardna devijacija, *p<0,05, g: gram; kg: kilogram; kcal: kilokalorije

Zbog nepridržavanju uputama istraživača, nisu svi ispitanici ispunili sve podskale ADI-a. Rezultati onih koji su ih ipak ispunili ukazuju na to kako nije bilo značajnih razlika u prehrambenom unosu prije i tijekom intervencije (Tablica 14). Pošto je većina ispitanika navela slabu konzumaciju vlakana i relativno nizak unos ugljikohidrata rezultati ADI-a su relativno slabi i generalno upućuju na nedovoljan unos žitarica u kontekstu sportske prehrane.

Tablica 15: ADI rezultati ispitanika

Skala (maksimalni broj bodova)	**N**	**Prije intervencije** (prosjek,SD)	**Tijekom intervencije** (prosjek, SD)	**Razlika** (p-vrijednost)
Specifični nutrijenti potskala (35)	7	18.4 ± 2.2	17.4 ± 3.2	0.448
Bazična prehrana potskala (80)	7	47.6 ± 12.9	46.9 ± 8.7	0.860
Prehrambene navike (10)	7	6.6 ± 1.6	6.1 ± 1.5	0.289
Ukupni rezultat (125)	10	72.2 ± 12.5	71.4 ± 10.6	0.937
Ukupni rezultat (%)	10	57.7 ± 9.8	57.1 ± 8.6	0.863

N: broj ispitanika koji je popunio potskalu; SD: standardna devijacija

I prehrambeni unos evaluiran dnevnikom istraživanja i ADI pokazali su nezavisno jedno od drugog kako se prehrambeni unos kod ispitanika nije značajno mijenjao tijekom intervencije.

4.2.4. Probava i nuspojave

Ispitanici su bilježili promjene u stolici i moguće nuspojave intervencije, ukoliko ih je bilo, u dnevnik istraživanja. Rezultati su prikazani u Tablici 15. Iako su na početku intervencije zabilježeni različiti Bristol tipovi stolica (BTS) među ispitanicima, od Dana 8 do Dana 10 svi ispitanici osim jednog naveli su BST 3 ili 4, koji se smatraju fiziološkim oblicima i konzistencijama stolice. Statistička obrada podataka pokazala je kako se vjerojatnost za BST 3 i 4 značajno povećala tjedan dana nakon početka intervencije kiselim kupusom. Manji broj ispitanika naveo je probavne tegobe u smislu nadutosti, proljeva ili bolova tijekom intervencije. Nijedan ispitanik nije naveo epizodu zatvora. Najveći broj nuspojava zabilježen je oko Dana 5 i 6 intervencije.

Tablica 16: Probava i nuspojave tijekom intervencije kod ispitanika

Ispitanici (N) koji navode BTS							**Vjerojatnost za BTS 3 i 4**	**Ispitanici (N) koji navode nuspojave**			
Dan	1	2	3	4	5	6	HR, CI, p-vrijednost	Nadutost	Proljev	Bol	Zatvor
1	0	4	3	2	0	1	50%, [18.7%,81.3%], 1.000	1	1	1	0
2	0	3	2	2	3	0	40%, [12.2%,73.8%], 0.527	1	0	0	0
3	0	2	0	5	3	0	50%, [18.8%,81.3%], 1.000	2	0	0	0
4	0	2	2	4	2	0	60%, [26.2%,87.8%], 0.527	1	0	0	0
5	0	1	2	4	2	1	60%, [26.2%,87.8%], 0.527	3	1	1	0
6	0	2	1	4	1	2	50%, [18.7%,81.3%], 1.000	3	2	1	0

7	0	2	2	2	4	0	40%, 0.527	[12.2%,73.8%],	2	0	0	0
8	0	0	2	8	0	0	100%, 0.002*	[69.2%,100%],	1	0	0	0
9	0	1	1	8	0	0	100%, 0.011*	[55.5%,99.7%],	1	0	0	0
10	0	0	2	8	0	0	100%, 0.002*	[69.2%,100%],	1	0	0	0

HR: "hazard ratio"; N: 10, CI: 95% "confidence interval" , BTS: tip stolice po Bristol skali, *p<0.05

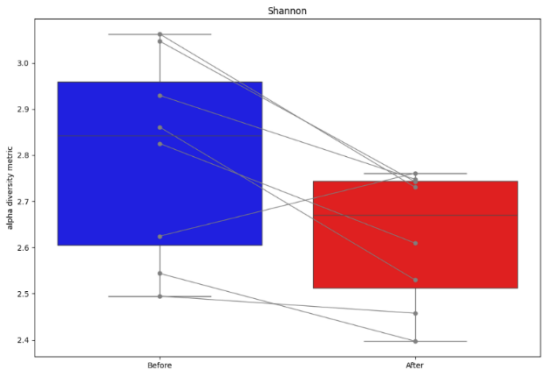
4.2.5. Promjene u sastavu crijevne mikrobiote (CM) *ispitanika*

Zbog neadekvatnosti uzoraka, rezultati dvaju ispitanika, ispitanika 8 i 9, isključeno je iz obrade podataka. Rezultati u nastavku odnosni se na rezultate analiza CM osam ispitanika.

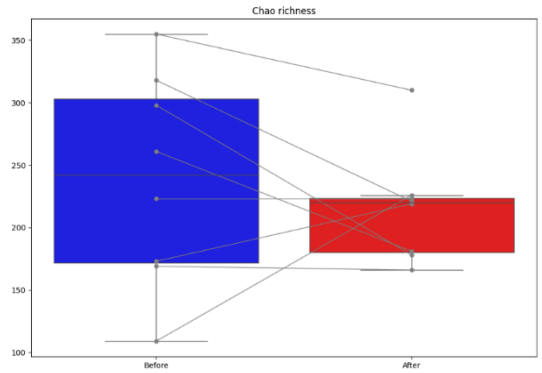
Podaci dobiveni amplikon sekvenciranjem iz uzoraka stolice prije i nakon intervencije analizirani su u kontekstu promjena relativnih udjela kako taksonomskih, tako i funkcionalnih skupina (metabolički putevi). Time su dobiveni podaci o promjenama na razini sastava, ali i funkcionalnosti CM.

Nakon intervencije kiselim kupusom nisu pronađene značajne razlike u α-raznolikosti CM, koristeći dvije neovisne mjere: Shannon indeksa i Chao bogatstva (Slika 8).

A



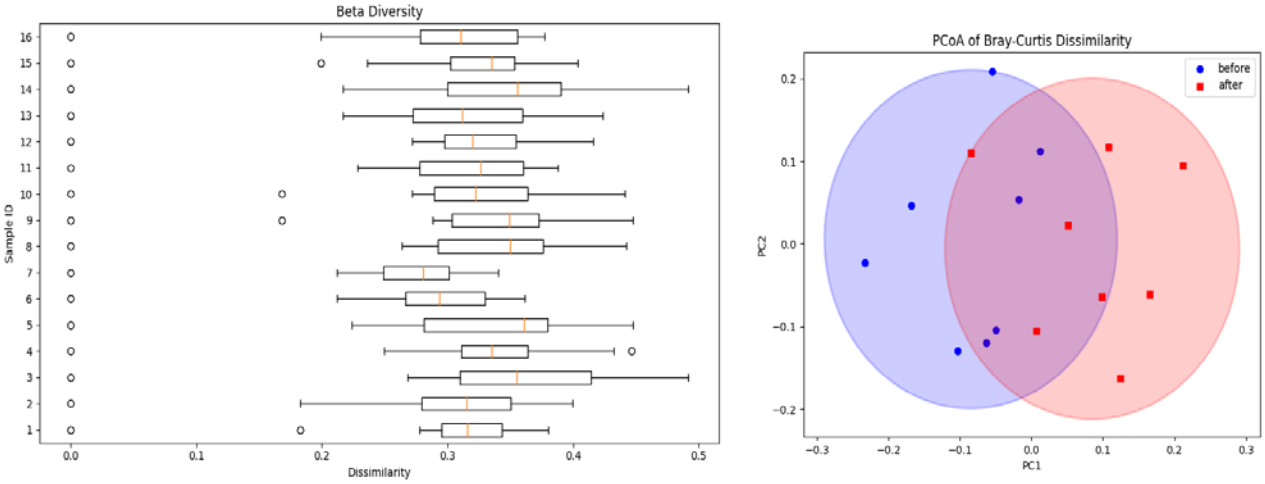
B



Slika 8: Promjene u metrikama α-raznolikosti crijevne mikrobiote ispitanika (A: Shannon indeks, B: Chao bogatstvo)

4.2.5.1. Sastav crijevne mikrobiote (CM) ispitanika

Kako bi se utvrdilo je li kiseli kupus imao značajan utjecaj na sastav CM, beta-raznolikost izračunata je za taksonomske skupine koljena i rodova koristeći Bray-Curtis metriku. Razina značajnosti određena je korištenjem ANOSIM testa (PALMNÄS-BÉDARD *i sur.*, 2023). Rezultati pokazuju kako je došlo do značajnih razlika u sastavu mikrobiote crijeva ($p < .001$) nakon intervencije kiselim kupusom. Međutim, R vrijednost od 0,314 ukazuje na to kako su razlike samo umjerene (Slika 9).



Slika 9: Promjene β-raznolikosti crijevne mikrobiote ispitanika po unosu kupusa

Po pitanju taksonomskih skupina zabilježene su značajne promjene na svim taksonomskim razinama. Iako na razini koljena nisu primijećene značajne promjene nakon intervencije po pitanju glavnih bakterijskih koljena Firmicutes i Bacteroidetes, došlo je ipak do značajnog smanjenja relativnog udjela Verrucomicrobia. Na razini obitelji najznačajnije promjene bile su smanjenja udjela obitelji *Akkermansiaceae* (p=0,049) i *Oscillospiraceae* (p=0,065) te povećanja udjela obitelji *Lachnospiraceae* (p=0,058), *Butyricicoccaceae* (p=0,094) i *Clostridiaceae* (p=0,096). Važno je napomenuti kako su q-vrijednosti (p-vrijednosti korigirane za lažnu pozitivnost) za navedene promjene bile 0,769. Zbog relativno slabe značajnosti uz visoke stope lažno pozitivnih rezultata, promatrane promjene na razini obitelji treba uzeti s oprezom. Rezultati na razini koljena i obitelji prikazani su u Tablici 16, pri čemu su obitelji navedene prema rastućim p-vrijednostima.

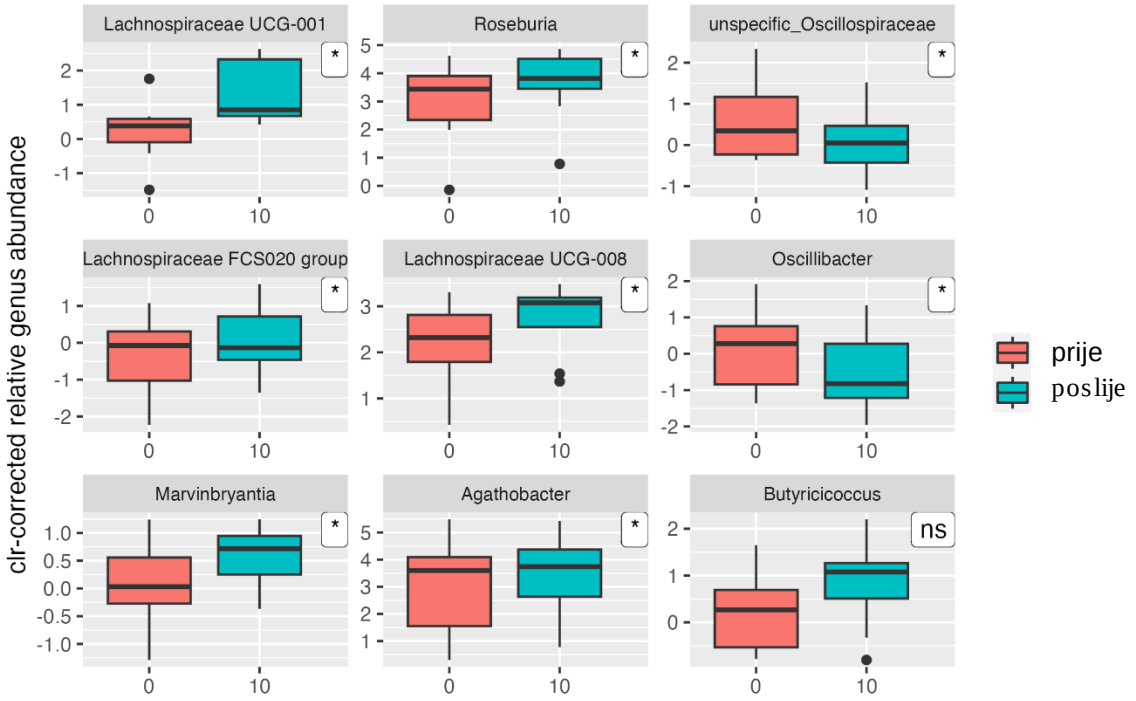
Tablica 17: Promjene u taksonomskim skupinama crijevne mikrobiote nakon unosa kiseloga kupusa

Takson	**p-vrijednost**	**koeficijent korelacije**	**FDR**
Koljeno			
Actinobacteria	0.411	0.314	0.600
Bacteroidetes	0.460	0.283	0.600
Firmicutes	0.338	0.363	0.600
Proteobacteria	0.230	-0.445	0.600
Lentisphaerae	0.442	0.295	0.600
Tenericutes	0.221	0.452	0.600
Verrucomicrobia	0.007	-0.816	0.074
Cyanobacteria	0.545	-0.234	0.605
Nespecifične bakterije	0.805	0.097	0.805
Desulfobacterota	0.480	0.271	0.600
Obitelj			
Akkermansiaceae	0.049	-0.669	0.769
Lachnospiraceae	0.058	0.651	0.769
Oscillospiraceae	0.065	-0.637	0.769
Butyricicoccaceae	0.094	0.591	0.769
Clostridiaceae	0.096	0.588	0.769
nespecifične_Alphaproteobacteria	0.193	-0.478	0.918

nespecifične_Clostridia UCG-014	0.226	-0.449	0.918
Muribaculaceae	0.233	-0.442	0.918
Barnesiellaceae	0.233	-0.442	0.918
Acholeplasmataceae	0.265	0.416	0.918
Monoglobaceae	0.372	0.339	0.918
nespecifične Gastranaerophilales	0.376	-0.337	0.918
Rikenellaceae	0.377	-0.336	0.918
nespecifične Oscillospirales	0.417	0.310	0.918
Bacteroidaceae	0.425	0.305	0.918
Eggerthellaceae	0.444	-0.293	0.918
Bacteroidales	0.493	-0.263	0.918
Veillonellaceae	0.515	0.251	0.918
Bifidobacteriaceae	0.526	0.244	0.918
Coriobacteriaceae	0.544	0.235	0.918
Desulfovibrionaceae	0.547	0.233	0.918
Ruminococcaceae	0.566	0.222	0.918
Marinifilaceae	0.579	-0.215	0.918
nespecifične Clostridia vadinBB60 grupa	0.582	0.213	0.918
Tannerellaceae	0.592	-0.207	0.918
nespecifične RF39	0.669	0.166	0.918
Peptostreptococcaceae	0.687	-0.157	0.918

Acidaminococcaceae	0.701	-0.149	0.918
Christensenellaceae	0.757	-0.121	0.918
nespecifične Rhodospirillales	0.758	0.120	0.918
Sutterellaceae	0.769	0.115	0.918
Selenomonadaceae	0.782	-0.108	0.918
nespecifične Clostridia	0.790	0.104	0.918
UCG-010	0.817	-0.090	0.918
Erysipelotrichaceae	0.830	-0.084	0.918
Anaerovoracaceae	0.831	0.083	0.918
Streptococcaceae	0.869	0.064	0.918
Prevotellaceae	0.881	-0.059	0.918
nespecifične bakterije	0.895	0.051	0.918
Erysipelatoclostridiaceae	0.975	-0.012	0.975

Na taksonomskoj razini rodova su nakon intervencije zabilježene značajne promjene u relativnim udjelima bakterija kod čak osam rodova (Slika 10). Zabilježen je porast u udjelima rodova koji pripadaju obitelji *Lachnospiraceae*: *Lachnospiraceae* UCG-008, *Lachnospiraceae* UUCG-001, *Roseburia*, *Lachnospiraceae* FCS020 grupa, *Marvinbryantia*, kao i *Agathobacter* (prije poznat kao *Eubacterium rectale*) te smanjenje udjela u rodovima koji pripadaju obitelji *Oscillospiraceae*: nespecifična *Oscillospiraceae* i *Oscillibacter*.



Slika 10: Najznačajnije promjene na razini rodova crijevne mikrobiote ispitanika po unosu kupusa

4.2.5.2. Funkcionalnost crijevne mikrobiote (CM)

Analizirano je ukupno 190 metaboličkih putova među identificiranim bakterijskim skupinama. Značajne promjene u broju bakterija pronađene su u sveukupno 35 metaboličkih putova (18,4%). Te promjene su se isključivo odnosile na putove vezane uz sintezu staničnih stijenki i metabolizam nukleotidnih baza (purinske, pirimidinske itd.) i bile su negativno korelirane s unosom kiseloga kupusa. Bakterije koje su aktivno sudjelovale u tim putovima bile su značajno pogođene intervencijom, uz niske stope lažno pozitivnih promjena. Putovi koji su značajno pogođeni intervencijom kiseloga kupusa prikazani su u Tablici 18.

Tablica 18: Najznačajnije promjene na razini metaboličkih puteva crijevne mikrobiote ispitanika po unosu kiseloga kupusa

Metabolički put	**p-vrijednost**	**koeficijent korelacije**	**FDR**

de novo biosinteza pirimidin deoksiribonukleotida I	0.000	-0.928	0.026
fosforilacija pirimidin deoksiribonukleotida	0.000	-0.925	0.026
superpathway de novo biosinteze guanozin nukleotida I	0.001	-0.916	0.026
superpathway salvage pirimidin ribunukleozida	0.001	-0.911	0.026
superpathway de novo biosinteza guanozin nukleotida II	0.001	-0.909	0.026
de novo biosinteza pirimidin deoksiribonukleotida II	0.001	-0.898	0.026
superpathway de biosinteza pirimidin ribonukleotida	0.001	-0.896	0.026
superpathway de novo biosinteza purinskih nukleotida I	0.001	-0.894	0.026
superpathway de novo biosinteza purinskih nukleotida II	0.001	-0.889	0.026
de novo biosinteza pirimdin deoksiribonukleotida III	0.001	-0.889	0.026
superpathway de novo biosinteza pirimidin deoksiribonukleotida (*E. coli)*	0.002	-0.878	0.032
superpathway salvage pirimidin deoksiribonukleozida	0.002	-0.874	0.033
maturacija peptidoglikana (mezo-diaminopimelat sadržava)	0.004	0.852	0.052
superpathway Entner-Doudoroff i glikoliza	0.005	-0.835	0.066
superpathway biosinteza tiamin difosfata I	0.005	-0.834	0.066
razgradnja glikogena I (bakterijska)	0.009	0.806	0.104
superpathway biosinteza L-alanina	0.010	0.796	0.116
superpathway razgradnja N-acetilneuraminata	0.011	-0.791	0.118
razgradnja galaktoza I (Leloirov put)	0.015	0.773	0.140
salvage tiamina II	0.015	0.772	0.140
razgradnja saharoze III (invertaza saharoze)	0.016	0.767	0.142
superpathway biosinteza histidine, purina i pirimidina	0.016	-0.764	0.142

glukoneogeneza I	0.022	0.744	0.163
razgradnja saharoze IV (fosforilaza saharoze)	0.022	0.741	0.163
ciklus S-adenozil-L-metionin I	0.022	0.741	0.163
NAD salvage put I	0.023	0.740	0.163
biosinteza CMP-3-deoksi-D-mano-oktulozonata I	0.024	-0.737	0.163
superpathway razgradnje heksuronida i heksuronata	0.024	0.735	0.163
TCA ciklus VI (obligatni autotrofi)	0.032	-0.709	0.208
superpathway razgradnje fukoze i ramnoze	0.033	0.708	0.208
biosinteza L-glutamata i L-glutamina	0.035	0.702	0.214
superpathway razgradja beta;-D-glukuronida i D-glukuronata	0.037	0.697	0.214
razgradnja L-ramnoze I	0.038	0.695	0.214
razgradnja škroba V	0.038	0.694	0.214
superpathway biosinteza pirimidin deoksiribonukleotida de novo	0.043	-0.683	0.232

FDR: “false discovery rate” korigirane p-vrijednosti

U svrhu boljeg razumijevanja funkcionalne dinamike mikrobioloških zajednica, grupirali smo funkcionalne metaboličke putove predviđene PiCRUST2 na temelju klase, ontologije ili interpretacije specifičnog metaboličkog puta u metaboličke funkcionalne module koristeći MetaCYC (CASPI *i sur.*, 2020). Zapaženo je nekoliko značajnih promjena. Nakon grupiranja, otkriveno je kako su metabolički putevi povezani s degradacijom polisaharida i šećera, kao i fermentacijom proteina, prisutni u većim brojevima nakon intervencije. U isto vrijeme, udjeli metaboličkih putova povezanih s metabolizmom butirata i upalom su smanjeni. Međutim, nakon višestrukog testiranja hipoteze, stopa lažne pozitivnosti (FDR) ipak nije ukazala na zaista značajne razlike u funkcionalnosti nakon intervencije (Tablica 18).

Tablica 19: Najznačajnije promjene metaboličkih funkcionalnih modula crijevne mikrobiote ispitanika po unosu kiseloga kupusa

Metabolički funkcionalni modul	p-vrijednost	koeficijent korelacije	FDR
razgradnja polisaharida	0.019	0.755	0.142
razgradnja šećera	0.026	0.729	0.142
indikatori upale	0.041	-0.687	0.142
fermentacija proteina	0.043	0.681	0.142
metabolizam butirata	0.047	-0.672	0.142

FDR: p-vrijednosti korigirane za "false discovery rate"

4.2.6. Laboratorijske analize krvi ispitanika

Vrijednosti laboratorijskih parametara iz uzoraka venske krvi određivane su prije i nakon intervencije. Podaci o prosječnim vrijednostima prije i dan nakon intervencije (Dan 0 i Dan 11) prikazani su u Tablici 19. Osim povećanja postotnog udjela limfocita u serumu i smanjenja razine vitamina B12 u serumu, nisu zabilježene značajne kratkoročne promjene laboratorijskih parametara nakon intervencije

Tablica 20: Promjene u laboratorijskim parametrima krvi ispitanika nakon unosa kiseloga kupusa

Parametar	Jedinica	Prije intervencije (prosjek, SD)	Dan nakon intervencije (prosjek, SD)	p-vrijednost
Testosteron	(mg/ml)	19.14±6.84	23.60±10.04	0.363
Kortizol	(mg/ml)	500.8±87.69	498.51±144.44	0.974

Folna kiselina	(mg/ml)	25.67±5.58	25.48±5.49	0.882
Vitamin B12	(mg/ml)	394.1±101.1	356.9±108.1	0.012*
Vitamin D	(mg/ml)	74.48±12.82	80.2±11.96	0.37
HOMA-β	(%)	114.84±38.33	115.38±45.36	0.974
HOMA-S	(%)	145.19±50.61	103.35±46.2	0.054
HOMA-IR	(%)	0.93±0.46	0.94±0.42	0.971
Inzulin	(pmol/l)	55.51±33.47	56.16±30.09	0.846
TSH	(mIU/l)	2.94±1.45	3.69±2.13	0.146
T3	(pmol/l)	5.21±1.11	5.11±1.07	0.233
CRP	(mg/L)	0.65±0.24	0.57±0.11	0.466
LDL	(mmol/l)	3.39±1.33	3.08±1.13	0.239
Urati	(μmol/l)	285.4±38.7	290.6±44.32	0.824
Limfociti	(%)	42.04±3.764	45.55±5.38	0.022*
Neutrofili	(%)	47.39±3.89	45.17±6.99	0.221
Leukociti	(10^9/l)	6.05±1.31	6.02±1.14	0.937
Eritrociti	(10^{12}/l)	4.96±0.23	4.99±0.18	0.681

SD: standardna devijacija;*$p<0.05$; HOMA-β: procjena aktivnosti β-stanica po homeostatskom modelu; HOMA-S: procjena periferne osjetljivosti po homeostatskom modelu; HOMA-IR: procjena inzulinske rezistencije po homeostatskom modelu; TSH: tireotropin; T3: trijodtironin; CRP: c-reaktivni protein; LDL: lipoprotein niske gustoće

4.3. KOMS 2 Potvrdna studija („follow-up study“)

4.3.1. Ispitanici

Podaci o ispitanicima prikazani su u Tablici 21, uključujući sociodemografske karakteristike kao što su spol, dob, vrsta sporta i godine bavljenja sportom. Za klasifikaciju ispitanika prema razini tjelesne aktivnosti i sportskim postignućima, korištene su smjernice „Participant Classification Framework“ (McKay *i sur.*, 2022). Zbog iskustva nemogućnosti obrade određenih uzoraka stolice u studiji dokazivanja koncepta, uključen je jedan ispitanik više od predviđenog broja od deset ispitanika, kako bi nadoknadilo potencijalno isključivanje nekog od ispitanika iz obrade podataka. Prosjek godina je u ovoj studiji bio viši za godinu dana, uz manju standardnu devijaciju od 1,56 naspram 4 godine u inicijalnoj studiji. Pošto su u ovu studiju uključeni i rekreativni i aktivni športaši prosječna klasifikacija športaša bila je naravno dosta niža, 2,64±0,98 naspram 3,9±1,22 u prvoj studiji. Dok razina 4 odgovara športašima koji sudjeluju u natjecanjima nacionalne razine (prosjek prva studija), razina 2 odgovara športašima koji imaju organizirane treninge.

Tablica 21 Karakteristike ispitanika

Ispitanik	**Spol**	**Dob (godine)**	**Sport**	**Godine u sportu**	**Klasifikacija športaša**
1	M	32	trening snage	22	Razina 2
2	M	31	trening snage	18	Razina 2
3	M	30	nogomet	23	Razina 2
4	M	27	nogomet	24	Razina 5
5	M	32	rugby	25	Razina 4
6	M	30	trening snage	19	Razina 2
7	M	30	trening snage	16	Razina 2
8	M	30	atletika	20	Razina 3
9	M	29	nogomet	18	Razina 3
10	M	28	trening snage	14	Razina 2
11	M	32	planinarenje	20	Razina 2
Prosjek, SD		30 ± 1,56		20,8 ± 5,69	2,64±0,98

4.3.2. Tjelesna aktivnost i san ispitanika

Tjelesna aktivnost i san pratili su se, kao i drugi čimbenik zabune prehrane, prije i tijekom intervencije. Podaci o prosječnoj učestalosti i prosječnom trajanju treninga te prosječnog količini sna prikazani su u Tablici 22. Nisu registrirane statistički značajne razlike po pitanju tjelesne aktivnosti i sna prije i tijekom intervencije, makar je količina je sna u prosjeku bila veća tijekom intervencije, a broj treninga manji i trajanje treninga kraće.

Tablica 22 Tjelesna aktivnost i san ispitanika

	Prije intervencije (prosjek, SD)	**Tijekom intervencije** (prosjek, SD)	**Razlika** (p-vrijednost)
Broj treninga tjedno	4,18 ± 1,72	4,0 ± 2,02	0,472
Trajanje treninga (min. dnevno)	64,09 ± 20,35	62,01 ± 16,2	0,559
San (sati)	7,78 ± 0,38	7,91 ± 0,37	0,263

SD: standardna devijacija

4.3.3. Prehrana ispitanika

Kompletni prehrambeni unos praćen je prije i tijekom intervencije putem virtualnog dnevnika prehrane. Nakon provedbe intervencije provedeni su dodatni nutricionistički intervjui s ispitanicima kako bi se nadoknadili propušteni detalji u dnevniku prehrane te su izrađeni dnevnici prehrane od strane nutricionista uključenih u istraživanje nakon naknadne komunikacije s ispitanicima na temelju podataka iz njihovih dnevnika prehrane. Podaci o prosječnom dnevnom prehrambenom unosu ispitanika prikazani su u Tablici 23. Osim značajnog povećanja dnevnog unosa vlakana i unosa vlakana po 1000 kcal tijekom intervencije, nisu registrirane druge statistički značajne razlike u prehrambenom unosu prije i tijekom intervencije. Ove promjene mogu se pripisati unosu kiseloga kupusa, koji je sam po sebi bogat vlaknima, ali siromašan kalorijama koje su u prosjeku porasle za nekih 50 kcal tijekom

intervencije naspram prije intervencije. Iako je prosječni dnevni unos masti bio viši za čak 4 g (p=0,092), razlika s obzirom na postotak sveukupnog energetskog unosa bio je minimalan (p=0,914). Zbog specifičnih prehrambenih navika ispitanika (npr. brza hrana, hrana iz dostave, smrznuti obroci i druga gotova hrana za koju je teško dobiti nutritivne informacije) i neslaganja u nutritivnim informacijama prisutnim u tablicama sastava hrane i deklaracijama hrane, navedeni rezultati prehrambenog unosa mogu biti sagledani samo kao procjene prehrambenog unosa, a tek manje stvari prikaz stvari stoga trebaju biti tumačeni s velikim oprezom.

Tablica 23 Nutritivni unos hrane ispitanika

	Prije intervencije (prosjek, SD)	**Tijekom intervencije** (prosjek, SD)	**Razlika** (p-vrijednost)
Energetski unos (kcal)	2918,50 ± 171,64	2965,42 ± 227,94	0,469
Unos proteina (g)	153,88 ± 16,58	157,82 ± 13,58	0,472
Unos proteina (g/kg)	1,68 ± 0,24	1,73 ± 0,21	0,631
Unos ugljikohidrata (g)	324,32 ± 31,28	318,69 ± 39,90	0,378
Unos ugljikohidrata (g/kg)	3,57 ± 0,32	3,56 ± 0,32	0,785
Unos masti (g)	98,02 ± 12,59	103,78 ± 10,64	0,092
Unos masti (% energetskog unosa)	31,52 ± 2,32	31,63 ± 1,81	0,914
Unos vlakana (g)	25,25 ± 2,15	29,04 ± 3,06	0,011*
Unos vlakana (g/1000 kcal)	8,88 ± 0,66	10,21 ± 1,82	0,020*

SD: standardna devijacija, *p<0,05, g: gram; kg: kilogram; kcal: kilokalorije

Upitnicima također nisu detektirane značajne razlike u prehrani ispitanika prije i tijekom intervencije. Dok je rezultat ispitanika u prosjeku po pitanju kvalitete prehrane športaša bio

niži tijekom intervencije sudeći po ADI, razlika nije bila statistički značajna. S druge strane su se sudeći po prosjeku rezultata na upitnicima MEDAS i SQM ispitanici tijekom intervencije više pridržavali mediteranskoj prehrani, što je najvjerojatnije posljedica većeg unosa povrća u obliku kiseloga kupusa. No, ni ova razlika nije bila statistički značajna. Sva tri upitnika koja su evaluirali prehrambeni unos nisu, unatoč određenim promjenama, detektirala značajna odstupanja prije i tijekom intervencije.

Tablica 24 Rezultati upitnika provedenih na ispitanicima

	Prije intervencije (prosjek, SD)	**Tijekom intervencije** (prosjek, SD9	**Razlika** (p-vrijednost)
ADI	60.09±14.77	58.73±12.37	1.000
MEDAS	6.09±2.43	6.64±2.11	0.104
SQM	7±1.79	7.45±2.58	0.073

SD: standardna devijacija; ADI: Athlete Diet Index; MEDAS: Mediterranean Diet Adherence Screener; SQM: Short Questionnaire on Mediterranean Diet Adherence and Diet Sustainability

Procjenom prehrambenog unosa putem dnevnika prehrane i korištenjem upitnika koji evaluiraju različite aspekte prehrane prije i tijekom intervencije nisu ustanovljene značajne razlike u prehrani. Zbog korištenja više nezavisnih instrumenata za objektivizaciju prehrane se s velikom vjerojatnošću može zaključiti kako nije došlo do značajnih promjena u prehrani ispitanika tijekom intervencije, zbog čega se prehrana može isključiti kao potencijalan čimbenik zabune u tumačenju rezultata intervencije.

4.3.4. Probava i nuspojave kod ispitanika

Ispitanici su bilježili promjene u stolici i moguće nuspojave intervencije, ukoliko ih je bilo, u dnevnik istraživanja. Rezultati su prikazani u Tablici 24. Statistička obrada podataka pokazala je kako se vjerojatnost za BST 3 i 4 povećala tjedan dana nakon početka intervencije, no ovo povećanje se nije pokazalo statistički značajnim (p=0,227). I nakon tjedan dana od početka intervencije je kontinuirano po tri ispitanika navodilo BTS manji ili veći od 3 i 4. Od nuspojava ispitanici su navodili nadutost, proljev, bol, mučninu i zatvor. Najveći broj nuspojava zabilježen je Dan 5 i 7 intervencije: po učestalosti najčešće nadutost, pa proljev.

Tablica 25 Probava i nuspojave kod ispitanika ijekom intervencije

Ispitanici (N) koji navode BTS							**Vjerojatnost za BTS 3 i 4**	**Ispitanici (N) koji navode nuspojave**				
Dan	1	2	3	4	5	6	HR, CI, p-vrijednost	Nadutost	Proljev	Bol	Zatvor	Mučnina
1	0	4	2	3	2	0	0.45, [16.0%, 74.9%], 1.000	1	0	0	0	0
2	0	3	3	3	2	0	0.55, [25.1%, 84.0%], 1.000	2	0	0	0	1
3	0	2	3	3	2	1	0.55, [25.1%, 84.0%], 1.000	3	0	0	0	0
4	1	1	2	5	1	1	0.64, [35.2%, 92.1%], 0.549	1	0	0	0	1
5	0	1	2	3	3	2	0.45, [16.0%, 74.9%], 1.000	3	2	0	1	1
6	0	1	3	3	2	2	0.55, [25.1%, 84.0%], 1.000	2	0	0	0	0
7	0	1	2	3	3	2	0.45, [16.0%, 74.9%], 1.000	3	1	0	0	0
8	0	2	3	4	2	0	0.64, [35.2%, 92.1%], 0.549	0	0	1	0	0
9	0	1	3	5	2	0	0.73, [46.4%, 99.0%], 0.227	1	0	0	0	0
10	0	2	3	5	1	0	0.73, [46.4%, 99.0%], 0.227	1	0	1	0	0

HR: “hazard ratio”; N: 11, CI: 95% “confidence interval”, BTS: tip stolice po Bristol skali

4.3.5. Promjene u sastavu crijevne mikrobiote (CM)

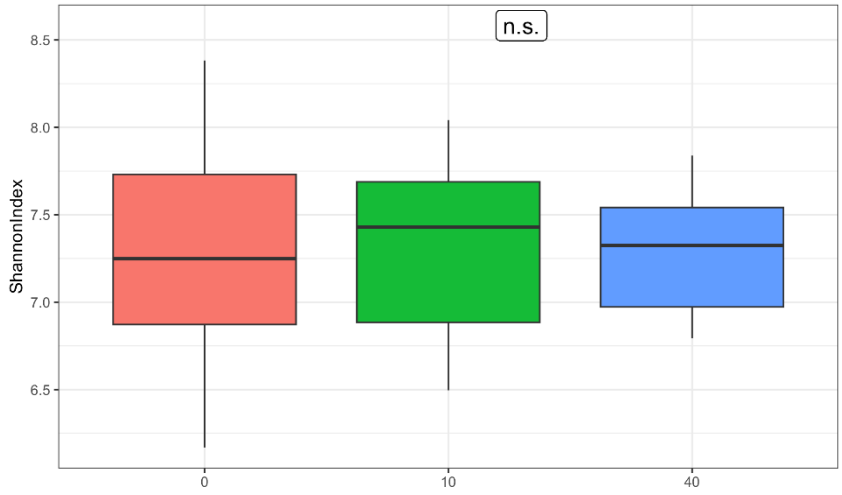
Zbog neadekvatnosti uzorka danog u trećoj vremenskoj točci (T40) mjesec dana nakon intervencije, rezultati jednog ispitanika (Ispitanik 11) isključeni su iz obrade podataka u pogledu tri vremenske točke. Finalno je obrada podataka iz triju vremenske točke učinjena na

10 ispitanika, a obrada podataka iz dvije vremenske točke (prije i dan nakon intervencije) na svih 11 ispitanika.

Rezultati amplikon sekvenciranja iz uzoraka stolice iz svih vremenskih točaka (prije, dan nakon i mjesec dana nakon intervencije) analizirani su po pitanju relativnih udjela kako taksonomskih, tako i funkcionalnih skupina (metabolički putevi). Na taj način dobivene su informacije o promjenama u sastavu i funkcionalnosti CM uslijed intervencije.

U svrhu izračuna α-raznolikosti CM korišten je Shannon indeks entropije (Slika 11). Iako medijan α-raznolikost sa 7,23 neposredno dan nakon intervencije statistički neznačajno poraste na 7,38 (p=0,832), on se nakon faze ispiranja vraća ponovno na 7,32. No, raspon vrijednosti α-raznolikosti se nakon faze ispiranja smanjuje. Dok prije intervencije raspon vrijednosti Shannon indeksa iznosi od 6,17 do 8,38, a mjesec dana nakon intervencije iznosi od 6,79 do 7,84.

Statističkom obradom nisu utvrđene značajne razlike u vrijednostima Shannon indeksa u tri vremenske točke (p=0,895).

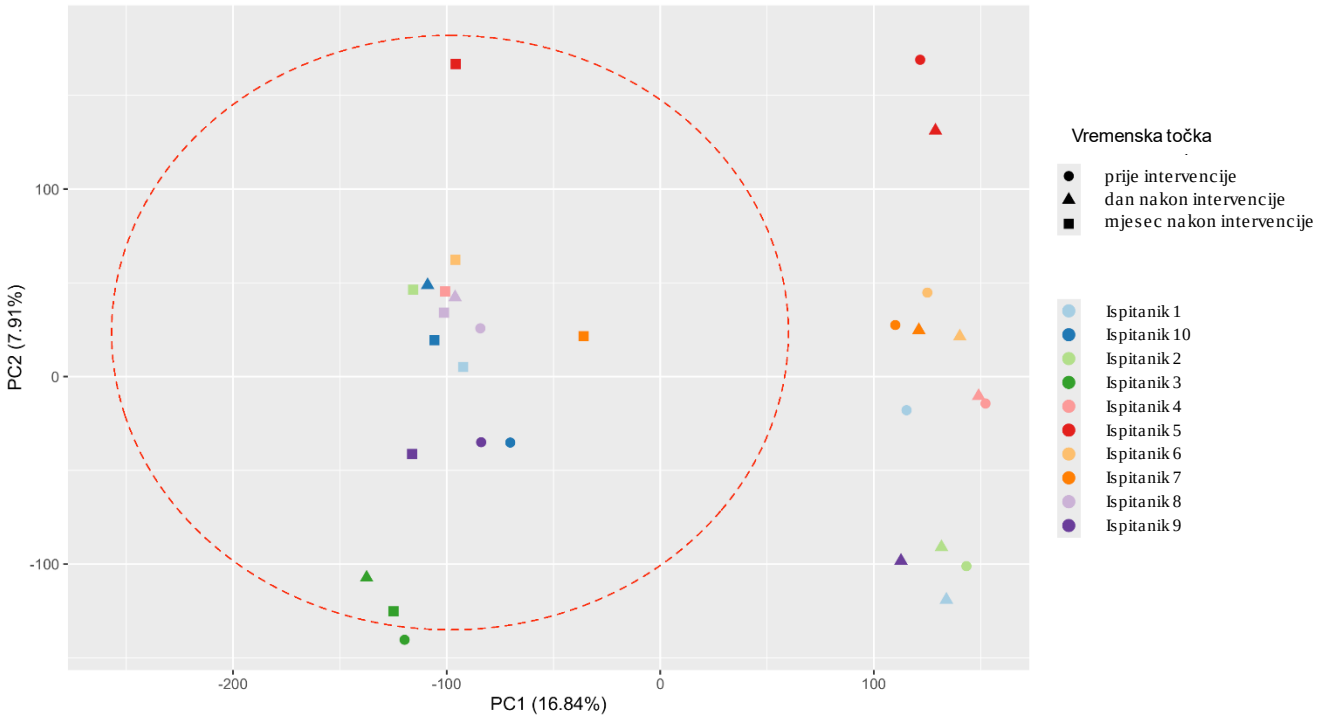


Slika 11 Promjene u α-raznolikosti crijevne mikrobiote ispitanika u tri vremenske točke (0=prije intervencije, 10=dan nakon intervencije, 40=mjesec dana nakon intervencije)

4.3.5.1. Sastav crijevne mikrobiote ispitanika (CM)

Za uvid promjena u sastavu CM analizirana je β-raznolikost svih uzoraka u različitim vremenskim točkama (Slika 12). Uočena je iznimna heterogenost sastava CM ispitanika prije intervencije. Ista heterogenost je uočena i vremenskoj točci dan nakon završetka intervencije. Izdvojene su dvije skupine u prve dvije vremenske točke: jedna su ispitanici 3,8,9 i 10, a s druge strane su ispitanici 1, 2, 4, 5, 6 i 7. No, ova heterogenost se smanjuje u trećoj vremenskoj točci,

mjesec dana po završetku intervencije kad poraste sličnost u sastavu CM svih ispitanika (crveni krug). No, unatoč pozitivnom trendu nakon faze ispiranja, razlike po pitanju β-raznolikosti nisu statistički značajne.



Slika 12 Promjene u β-raznolikosti crijevne mikrobiote ispitanika u tri vremenske točke

Ako gledamo sastav CM, statističkom obradom podataka uočene su značajne razlike u relativnom udjelima bakterija među tri vremenske točke na svim taksonomskim razinama: od koljena, obitelji do rodova. Rezultati po pitanju koljena i rodova prikazana je u Tablici 26, poredani po statističkoj značajnosti. Na razini koljena razlike su značajne po pitanju udjela čak pet bakterijskih koljena ($p<0,037$), uključujući dva glavna bakterijska koljena: Firmicutes i Bacteroidetes. Čak kad se uvaži i mogućna lažna pozitivnost ovih rezultata značajne su razlike čak četiri koljena ($q\leq0,045$): Firmicutes, Actinobacteria, Lentisphaerae i Bacteroidetes. Ako se pak uspoređuju udjeli koljena prije i dan nakon intervencije samo je smanjenje ($r=-0,597$) udjela koljena Actinobacteria značajno ($p=0,040$), s time da je s obzirom na FDR vjerojatno lažno pozitivno ($q=0,243$). Na razini obitelji su detektirane značajne razlike među trim vremenskim točkama u udjelima 14 obitelji bakterija. No, za razliku od koljena, ne može se isključiti kako su ove razlike lažno pozitivne (q>,051).

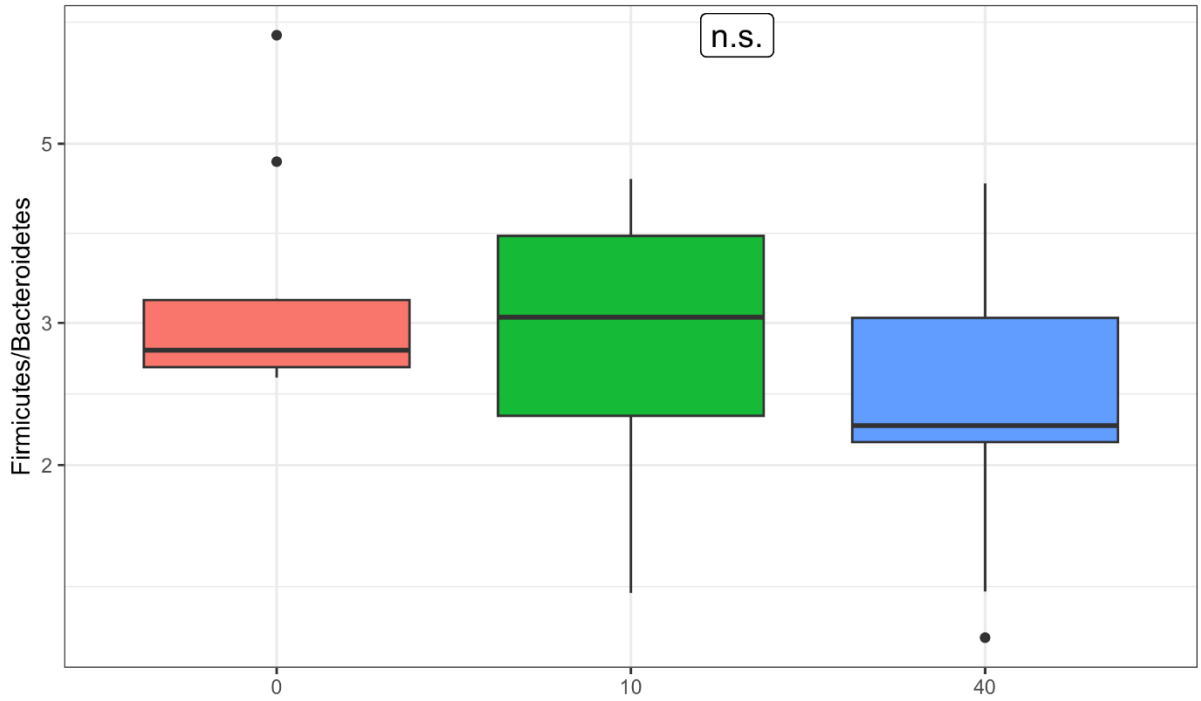
Tablica 26 Promjene u udjelima koljena i obitelji crijevne mikrobiote ispitanika uslijed intervencije

	p-vrijednost	**koeficijent korelacije**	**FDR**
Koljeno			
Firmicutes	0,004	-0,600	0,028
Actinobacteria	0,016	-0,521	0,045
Lentisphaerae	0,025	0,489	0,045
Bacteroidetes	0,026	-0,485	0,045
Cyanobacteria	0,037	0,457	0,052
Proteobacteria	0,175	-0,307	0,205
Desulfobacterota	0,687	-0,093	0,687
Obitelj			
nespecifične Rhodospirillales	0,002	0,647	0,051
Ruminococcaceae	0,003	-0,609	0,051
Streptococcaceae	0,004	-0,603	0,051
nespecifične Clostridia	0,006	-0,576	0,056
Peptostreptococcaceae	0,007	-0,567	0,056
Butyricicoccaceae	0,009	-0,558	0,056
nespecifične Alphaproteobacteria	0,010	0,548	0,056
nespecifične Gastranaerophilales	0,011	0,541	0,056
Lachnospiraceae	0,013	-0,534	0,056
[Eubacterium] coprostanoligenes grupa	0,017	-0,514	0,063
Obitelj XI Tissierellales	0,017	0,513	0,063
Victivallaceae	0,022	0,497	0,073
Clostridiaceae	0,028	-0,478	0,087
Anaerovoracaceae	0,035	-0,461	0,101
Erysipelatoclostridiaceae	0,054	-0,427	0,144
Veillonellaceae	0,081	-0,390	0,202
Muribaculaceae	0,095	-0,374	0,223
Eggerthellaceae	0,147	-0,328	0,321

Oscillospiraceae	0,153	-0,323	0,321
Barnesiellaceae	0,163	0,316	0,326
Christensenellaceae	0,200	-0,291	0,381
nespecifične RF39	0,222	0,278	0,404
Acidaminococcaceae	0,253	0,261	0,440
Bacteroidaceae	0,268	-0,253	0,446
Enterobacteriaceae	0,279	-0,248	0,446
Sutterellaceae	0,321	-0,228	0,494
Marinifilaceae	0,386	0,200	0,562
Bifidobacteriaceae	0,397	-0,195	0,562
Erysipelotrichaceae	0,407	-0,191	0,562
Prevotellaceae	0,502	0,155	0,670
nespecifične Clostridia vadinBB60 grupa	0,539	0,142	0,695
Desulfovibrionaceae	0,582	-0,128	0,727
Monoglobaceae	0,684	-0,095	0,809
nespecifične Clostridia UCG-014	0,688	0,093	0,809
Lactobacillaceae	0,739	-0,077	0,826
Tannerellaceae	0,744	-0,076	0,826
Coriobacteriaceae	0,871	-0,038	0,919
Pasteurellaceae	0,873	-0,037	0,919
Rikenellaceae	0,944	0,016	0,968
Selenomonadaceae	0,990	0,003	0,990

Pošto su detektirane značajne promjene u koljenima Firmicutes i Bacteroidetes, odlučno je statistički obraditi i promjene u omjeru između Firmicutes i Bacteroidetes (kratko F/B omjer) (Slika 13). Omjer između koljena Firmicutes i Bacteroidetes je tradicionalno smatran dijagnostičkim biljegom prekomjerne tjelesne mase, što je opovrgnuto najnovijim istraživanjima (KARAČIĆ *i sur.*, 2024). Danas se on smatra generalno čisto taksonomskim pokazateljem odnosa između dvije glavne bakterijske skupine unutar CM. Dan nakon intervencije vidi se porast medijana vrijednosti F/B omjera, a mjesec dana nakon završetka intervencije smanjenje medijana vrijednosti F/B omjera, ispod vrijednosti medijana prije

intervencije. Razlike u tri vremenske točke pokazale su se skoro pa statistički značajnima (p=0,057), iako se procjenom lažne pozitivnosti vjerojatno radi o lažno pozitivnom rezultatu (q=0,229). Razlika u F/B omjeru prije i dan nakon završetka intervencije se nije pokazala značajnom (p=0,689). Za usporedbu, u istraživanju na ovoj geografskoj populaciji (Republika Hrvatska) provedenom u istoj ustanovi i laboratoriju, sve vrijednosti medijana F/B omjera u sve tri vremenske točke nalazi se u interkvartilnom rasponu za navedenu populaciju od 2.35–4.47.



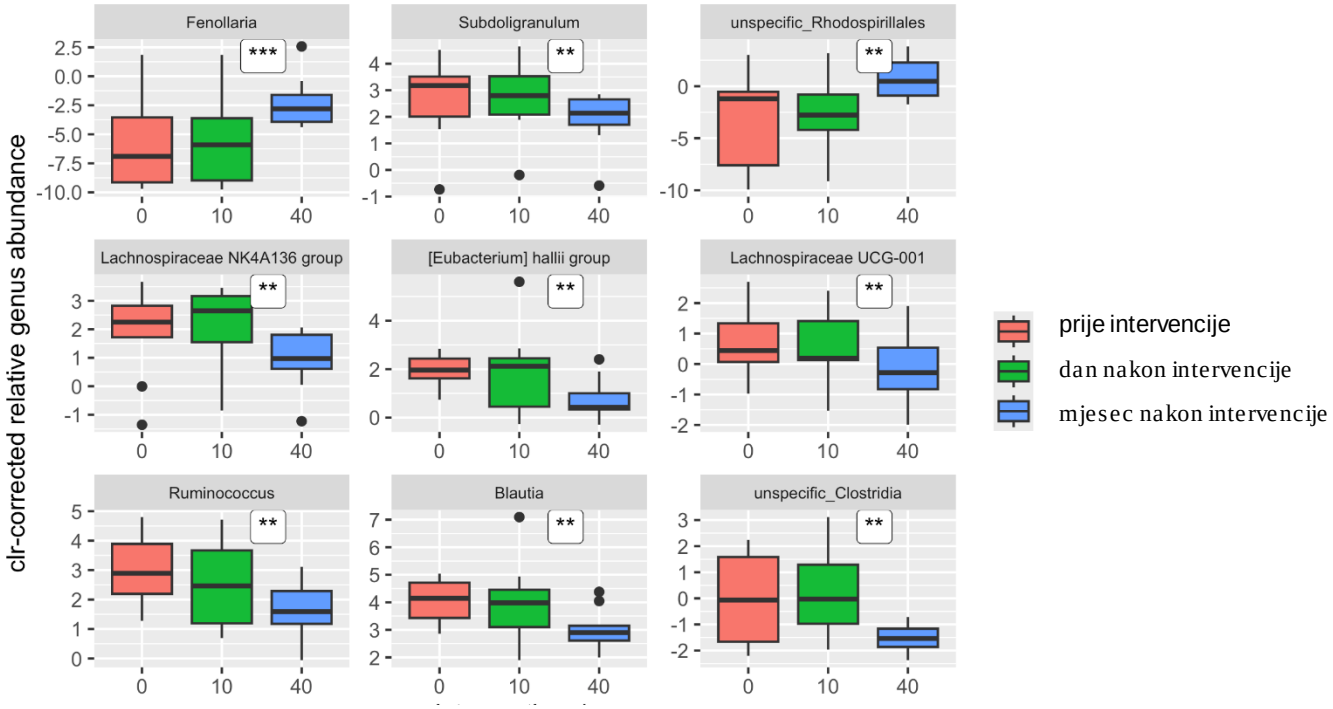
Slika 13 Promjene u Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) omjeru crijevne mikrobiote ispitanika u tri vremenske točke

Na razini rodova detektirane su statistički značajne razlike između tri vremenske točke u čak 34 roda (p<0,044). No, ako se gleda i moguća lažna pozitivnost rezultata putem FDR, udjeli samo 14 rodova se doimaju značajno različitima (q≤0,047) (Tablica 27).

Tablica 27 Najznačajnije promjene na razini rodova crijevne mikrobiote ispitanika uslijed intervencije

	p-vrijednost	koeficijent korelacije	FDR
Fenollaria	<0,001	0,722	0,019
Subdoligranulum	0,001	-0,650	0,043
nespecifične Rhodospirillales	0,002	0,634	0,043
Lachnospiraceae NK4A136 grupa	0,002	-0,627	0,043
[Eubacterium] hallii grupa	0,003	-0,619	0,043
Lachnospiraceae UCG-001	0,005	-0,591	0,043
Ruminococcus	0,005	-0,588	0,043
Blautia	0,005	-0,586	0,043
nespecifične Clostridia	0,006	-0,583	0,043
Romboutsia	0,006	-0,581	0,043
Peptoniphilus	0,006	0,580	0,043
Streptococcus	0,006	-0,576	0,043
Butyricicoccus	0,006	-0,575	0,043
nespecifične Lachnospiraceae	0,008	-0,564	0,047

Ovom statističkom metodom analizirane su samo statistički značajne razlike između tri vremenske točke, ne i smjer promjene na razini roda. Udjeli navedenih rodova su se različito ponašali dan i mjesec dana nakon završetka intervencije (Slika 14).



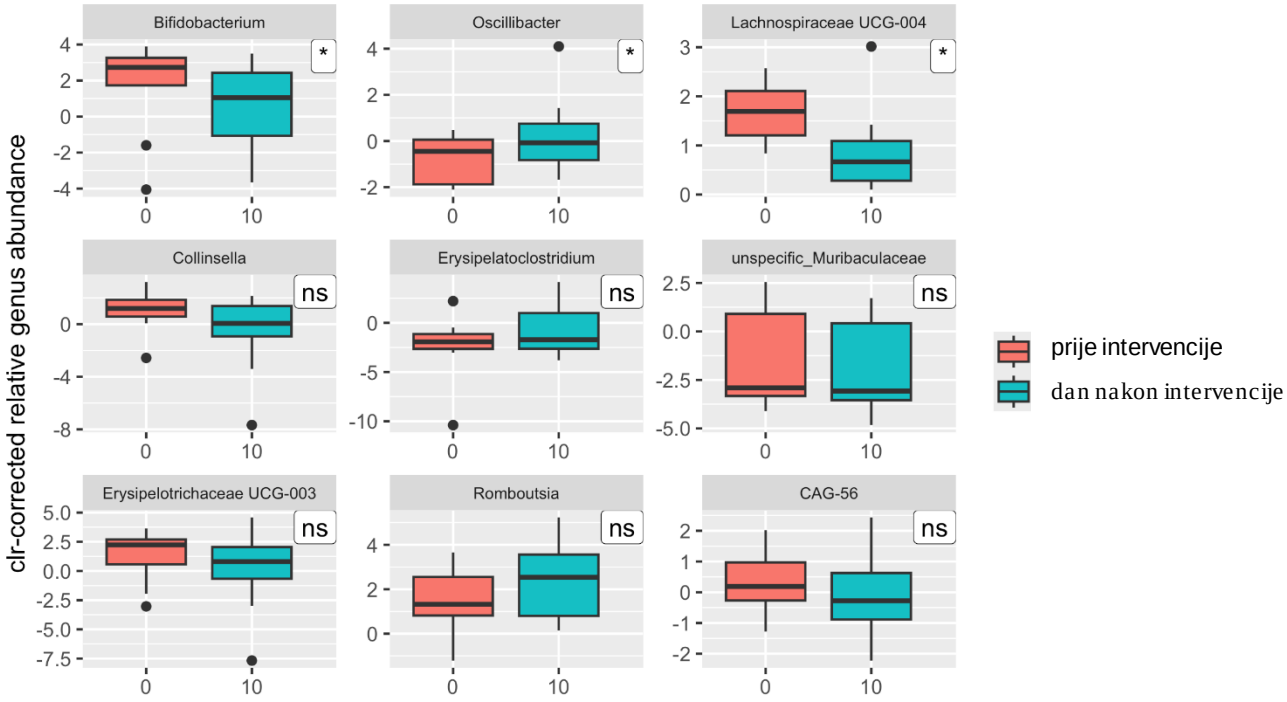
*Slika 14 Promjene udjele rodova crijevne mikrobiote ispitanika uslijed intervencije (***p<0,001, **p<0,01)*

Dok su udjeli nekih rodova kontinuirano rasli u obje vremenske točke kao što je to slučaj kod roda *Fenollaria* (r=0,722), udjeli drugih rodova su kontinuirano opadali u obje vremenske točke kao što je to slučaj kod rodova *Subdoligranulum* (r=-0,650), *Ruminococcus* (r=-0,588) i *Blautia* (r=-0,586)(za sva tri roda q=0,043). Udjeli pak drugih rodova su dan nakon intervencije opali, pa ponovno rasli, kao što je to slučaj s rodom nespecifične *Rhodospirillales* (r=0,634), ili pak obrnuto porasli pa onda opali, kao primjerice rod *Lachnospiraceae* NK4A136 grupa (r=-0,627). U svrhu bolje usporedbe s rezultatima studije dokazivanja koncepta, statistički su obrađeni i isključivo rezultati međusobno prije i dan nakon intervencije na razini rodova (Tablica 28, Slika 15).

Značajne razlike u relativnim udjelima detektirane su samo u tri roda dan nakon intervencije: *Bifidobacterium, Oscillibacter* i *Lachnospiraceae UCG-004.* No, vjerojatno se radi o lažno pozitivnom rezultatima (q=0,958). Smanjenje udjela roda *Bifidobacterium* je vjerojatno zaslužno za smanjenje udjela koljena Actinobacteria kojemu pripada, koje je također značajno dan nakon intervencije.

Tablica 28 Značajne promjene na razini rodova crijevne mikrobiote ispitanika nakon intervencije

	p-vrijednost	koeficijent korelacije	FDR
Bifidobacterium	0,028	-0,630	0,958
Oscillibacter	0,030	0,625	0,958
Lachnospiraceae UCG-004	0,047	-0,582	0,958



*Slika 15 Promjene na razini rodova crijevne mikrobiote ispitanika dan nakon intervencije (*p<0,05)*

4.3.5.2. Funkcionalnost crijevne mikrobiote ispitanika

Statistički su obrađeni udjeli bakterija u sveukupno 187 metabolička puta. Značajne razlike među trim vremenskim točkama detektirane su u 14 metaboličkih puteva (7,5% svih puteva), koje se ne doimaju lažno pozitivnim (q≤0,481). Većina ovih metaboličkih puteva povezana je s metabolizmom nukleotidnih baza (purinskih, pirimidinskih, guanozinskih).

Tablica 29 Značajne promjene u tri vremenske točke na razini metaboličkih puteva crijevne mikrobiote ispitanika uslijed intervencije

Metabolički put	p-vrijednost	koeficijent korelacije	FDR
razgradnja purinskih nukleobaza I (anaerobna)	0,005	-0,583	0,424
superput razgradnje purinskih dezoksiribonukleozida	0,006	-0,577	0,424
metanogeneza iz acetata	0,007	-0,570	0,424
razgradnja acetilena	0,010	-0,549	0,424
biosinteza CMP-3-deoksi-D-mano-oktulozonata I	0,011	0,541	0,424
superput aspartata	0,019	-0,507	0,481
superput biosinteze tiamin-difosfata I	0,025	0,489	0,481
biosinteza lipida IVA	0,026	0,484	0,481
biosinteza kveozina	0,029	0,476	0,481
superput biosinteze O-antigenskih građevnih blokova iz GDP-manoze	0,029	0,475	0,481
produljenje zasićenih masnih kiselina	0,033	0,468	0,481
superput razgradnje pirimidinskih dezoksiribonukleozida	0,034	-0,465	0,481
razgradnja saharoze III (saharoza invertaza)	0,034	-0,464	0,481
razgradnja guanozinskih nukleotida III	0,036	-0,459	0,481
superput razgradnje N-acetilglukozamina, N-acetilmanozoamina i N-acetilneuraminata	0,039	-0,454	0,481

Ako gledamo promjene samo u dvije vremenske točke, prije i dan nakon intervencije, kao što je učinjeno u studiji dokazivanja koncepta, onda broj značajnih promjena pada na samo deset metaboličkih puteva (Tablica 30). Radi se metaboličkim putevima uključenima u procese fermentacije, te razgradnju aminokiselina i ugljikohidrata te sintezu vitamina B1 i B6. Udjeli razgradnje aminokiselina su dan nakon završetka intervencije u padu (r=-0,619 i -0,631), dok su svi ostali putevi u porastu (osim sinteze preteče tiamina, vitamina B1). Dan nakon završetka intervencije ne dolazi do značajnih promjena u nijedno od metaboličkih puteva povezanim uz

metabolizam nukleotidskih baza. Uz to FDR ukazuje na lažu pozitivnost ovih detektiranih razlika (q=0,708).

Tablica 30 Značajne promjene na razini metaboličkih puteva crijevne mikrobiote ispitanika dan nakon intervencije

Metabolički put	**p-vrijednost**	**koeficijent korelacije**	**FDR**
fermentacija piruvata u propanoat I	0,005	0,752	0,708
razgradnja L-histidina I	0,022	0,651	0,708
ciklus S-adenozil-L-metionina I	0,028	-0,631	0,708
glikoliza I (iz glukoza 6-fosfata)	0,028	0,631	0,708
homolaktična fermentacija	0,031	0,622	0,708
glikoliza II (iz fruktoza 6-fosfata)	0,031	0,621	0,708
superput biosinteze L-alanina	0,032	-0,619	0,708
mješovita kiselinska fermentacija	0,040	0,598	0,708
biosinteza tiazola I (E. coli)	0,045	-0,587	0,708
superput biosinteze i spašavanja piridoksal 5'-fosfata	0,046	0,585	0,708

Kako bi se stekao bolji uvid u promjene funkcionalnost CM, metabolički putevi svrstani su u metaboličke funkcionalne module koristeći MetaCYC (CASPI *i sur.*, 2020) na temelje klase, ontologije i interpretacije predviđene s PiCRUST2 određenog puta. Statističkom obradom podataka ustanovljena je značajna razlika u tri vremenske točke u vidu smanjenja udjela unutar pokazatelja zatvora (p=0,015), no nakon izračuna stope lažne pozitivnosti (FDR) i ova povezanost je izgubila na značajnosti. Ako gledamo razlike u udjelima funkcionalnih metaboličkih modula samo prije i dan nakon intervencije ne možemo detektirati nikakvu statističku značajnost (najniži p=0,165, q=0,980).

Tablica 31 Razlike u metaboličkim funkcionalnim modulima uslijed intervencije

Metabolički funkcionalni modul	**p-vrijednost**	**koeficijent korelacije**	**FDR**
pokazatelji zatvora	0,015*	-0,525	0,218

pokazatelji upale	0,166	0,314	0,632
razgradnja masti	0,168	-0,313	0,632
razgradnja ugljikohidrata [šećer]	0,187	-0,299	0,632
funkcija crijevne barijere	0,284	0,245	0,632
metabolizam energije i hiperacidnost	0,292	-0,241	0,632
apetit i razina kolesterola	0,307	-0,234	0,632
intolerancija na laktozu	0,337	-0,220	0,632
proizvodnja vitamina K	0,426	-0,184	0,710
citotoksini	0,509	0,152	0,755
fermentacija proteina	0,553	-0,137	0,755
razgradnja ugljikohidrata [polisaharidi]	0,694	0,091	0,867
proizvodnja vitamina B12	0,831	0,049	0,955
intolerancija na fruktozu	0,891	-0,032	0,955
san i stanje uma	0,970	0,009	0,970

*$p<0,05$

4.3.6. Laboratorijske analize krvi ispitanika

Vrijednosti laboratorijskih parametara iz uzoraka venske krvi određivane su u tri vremenske točke: prije, dan i mjesec nakon intervencije. Podaci o prosječnim vrijednostima u ove tri vremenske točke prikazani su u Tablici 32. Pošto se distribucija vrijednosti B12 ispitanika nije pokazala normalnom po Shapiro-Wilk testu, za istu je korišten Friedman test, a za ostala četiri parametra test ANOVA ponovljenih mjera.

Osim povećanja postotnog udjela limfocita u serumu i smanjenja razine vitamina B12 u serumu, nisu zabilježene promjene laboratorijskih parametara uslijed intervencije. Dok u prosjeku koncentracija leukocita raste i nakon faze ispiranja, prosječna vrijednost koncentracije B12 se vraća skoro pa na početnu vrijednost nakon faze ispiranja. No, ni razlike po pitanju koncentracije leukocita ni vitamina B12 nisu bile statističke značajne među tri vremenske točke. Sudeći po postotcima udjela limfocita i neutrofila, nije jasno koji tip leukocita doprinosu rasta ukupne koncentracije leukocita uslijed intervencije. Udio limfocita se smanjuje, a udio neutrofila raste neposredno nakon intervencije, no ne nastavlja rasti nakon faze ispiranja.

Tablica 32 Promjene u laboratorijskim parametrima krvi ispitanika

Parametar	Jedinica	Prije intervencije (prosjek ± SD)	Dan nakon intervencije (prosjek ± SD)	Mjesec nakon intervencije (prosjek ± SD)	p-vrijednost
Leukociti	(10^9/l)	5.35 ± 1.16	5.9 ± 1.05	6.39 ± 1.7	0,052
Limfociti	(%)	40.19 ± 4.89	36.28 ± 6.4	36.4 ± 8.46	0,228
Neutrofili	(%)	47.65 ± 4.72	51.92 ± 6.17	51.36 ± 7.08	0,196
Vitamin B12	(mg/ml)	366.1 ± 57.31	326.3 ± 51.18	355.7 ± 56.02	0,097
Folna kiselina	(mg/ml)	32.24 ± 7.74	32.94 ± 13.14	33.43 ± 8.91	0,913

SD: standardna devijacija

4.4. KOMS 3 Longitudinalna studija

4.4.1. Ispitanik

Za sudjelovanje u longitudinalnoj studiji odabran je Ispitanik 7 iz potvrdne studije zbog dobrog pridržavanja uputa istraživača i činjenice kako su mu se svi uzorci pokazali adekvatnima prilikom sekvenciranja. Ispitanik ima godina koliko i prosjek ispitanika u potvrdnoj studiji, 30, te je klasificiran kao športaš razine 2, malo niže od prosjeka u potvrdnoj studiji 2,64.

Tablica 33 Ispitanik u longitudinalnoj studiji

Ispitanik	Spol	Dob (godine)	Sport	Godine u sportu	Klasifikacija športaša
7	M	30	trening snage	16	Razina 2

4.4.2. Čimbenici zabune

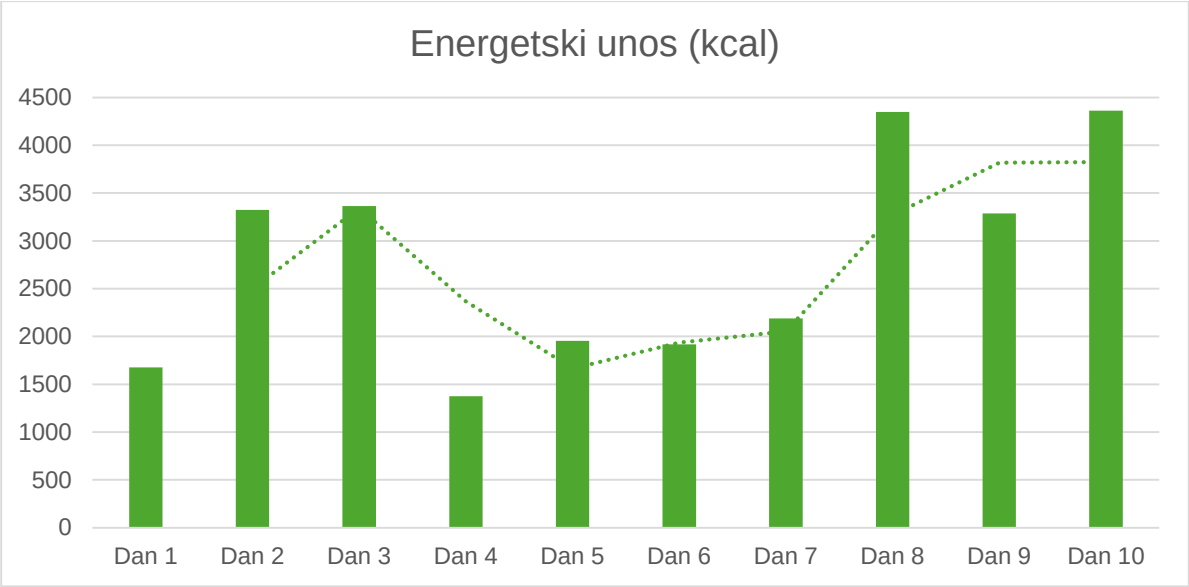
Cjelokupni prehrambeni unos praćen je putem virtualnog dnevnika istraživanja. Nakon ujednačavanja unosa s pravilima nutricionističke struke u komunikaciji s ispitanikom u vezi specifičnih nedostataka i manjkavosti, izračunat je prehrambeni unos po pitanju unos energije, makro- i mikronutrijenata. Rezultati prehrambenog unosa su na isti način, s identičnim kategorijama kao i u prve dvije studije, prikazani u Tablici 34, a slikovito u Slikama 16 i 17.

Deskriptivnom obradom podataka detektirana je iznimno visoka varijabilnost vrijednosti prehrambenog unosa: standardna devijacija vrijednosti energetskog unosa iznosi čak 1096 kcal, unos proteina 67g, a unosa ugljikohidrata 96g. Vrijednosti prehrambenog unosa kulminiraju u dva vremenska razdoblja tijekom trajanja intervencije: Danima 2 i 3 te potom Danima 8,9 i 10. Sve kategorije prehrambenog unosa obuhvaćene obradom podataka prate ovaj trend (točkaste linije na Slikama 16 i 17): energetski unos, unos makronutrijenata te unos vlakana. Ovi rezultati ukazuju na to kako se ispitanik nije držao uputa po pitanju ujednačavanja prehrambenog unosa tijekom trajanja intervencije.

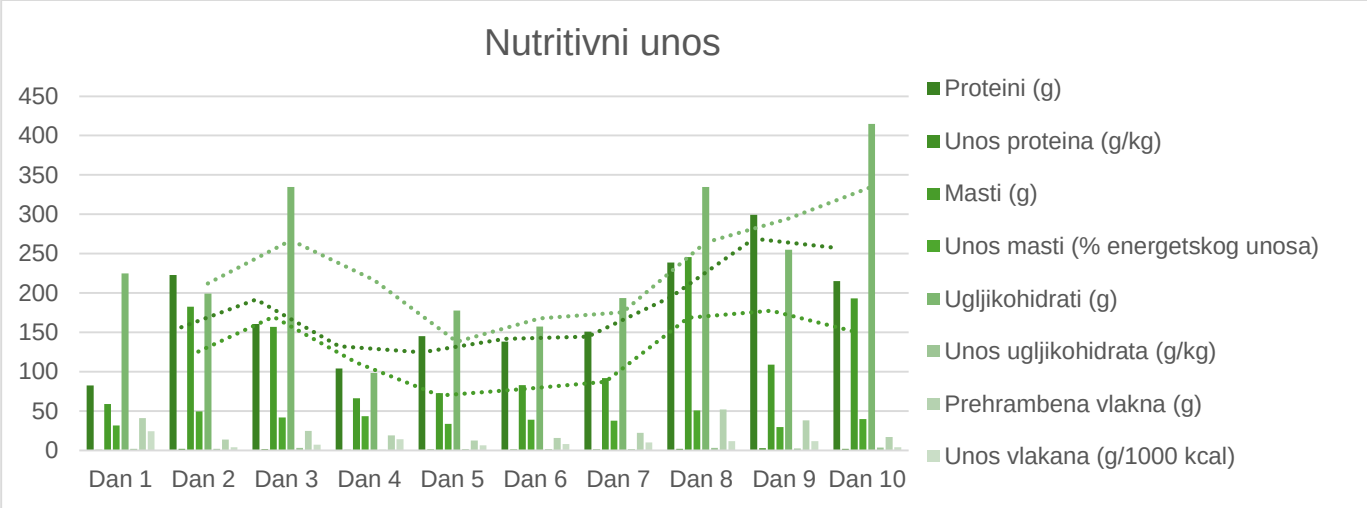
Tablica 34 Prehrambeni unos ispitanika tijekom intervencije

	Dan 1	**Dan 2**	**Dan 3**	**Dan 4**	**Dan 5**	**Dan 6**	**Dan 7**	**Dan 8**	**Dan 9**	**Dan 10**
Energija (kcal)	1677,76	3323,2	3362,76	1375,75	1953,8	1916,2	2189,6	4349,2	3287,3	4361,68
Proteini (g)	82,73	223,0	160,58	103,99	145,3	138,4	150,8	238,8	299,1	215,26
Unos proteina (g/kg)	0,77	2,06	1,49	0,96	1,35	1,28	1,4	2,21	2,77	1,99
Masti (g)	58,84	182,8	157,16	66,49	72,93	82,8	91,85	245,6	108,9	193,17
Unos masti (% unosa energije)	31,55	49,5	42,07	43,44	33,56	38,85	37,74	50,85	29,82	39,89
Ugljikohidrati (g)	224,7	199,0	334,54	98,25	177,8	157,4	193,7	334,7	254,9	414,72
Unos ugljikohidrata (g/kg)	2,08	1,84	3,1	0,91	1,65	1,46	1,79	3,1	2,36	3,84
Prehrambena vlakna (g)	41,17	13,72	24,73	19,31	12,57	15,68	22,16	52,05	38,11	17,11
Unos vlakana (g/1000 kcal)	24,53	4,13	7,36	14,04	6,43	8,18	10,12	11,97	11,59	3,92

g: gram; kg: kilogram; kcal: kilokalorije



Slika 16 Energetski unos ispitanika tijekom intervencije



Slika 17 Nutritivni unos ispitanika tijekom intervencije

Pored prehrane, san i tjelesna aktivnost su praćena kao drugi čimbenici zabune putem dnevnika istraživanja (Tablica 35) . Po pitanju sna ponovno je detektirana velika varijabilnost količine sna izražene u satima, s rasponom vrijednosti od 4,5 do 10,5 sati. U prosjeku je ispitanik spavao 7,52 sata uz standardnu devijaciju od 1,83 sata. Tijekom intervencije ispitanik je trenirao 5 puta, odnosno skoro svaki drugi dan. Trajanje treninga je ponovno bilo iznimno varijabilno, s prosjekom od 22,5 minute uz standardnu devijaciju od 25,3 minute. Slično kao i po pitanju prehrane vidi se trend od dva vremenska razdoblja s nadprosječnim vrijednostima tijekom Dana 3 i 4 te Dana 8 i 9. Isto tako je i trajanje treninga nadprosječno tijekom Dana 3 i 4.

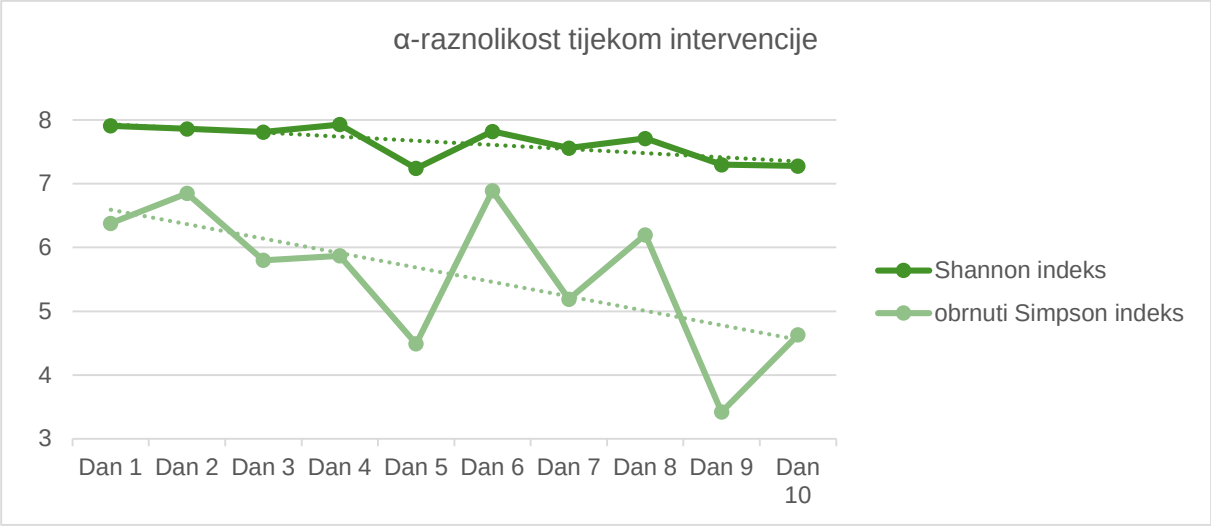
Tablica 35 San i tjelesna aktivnost ispitanika tijekom intervencije

	Dan 1	**Dan 2**	**Dan 3**	**Dan 4**	**Dan 5**	**Dan 6**	**Dan 7**	**Dan 8**	**Dan 9**	**Dan 10**	**Prosjek, SD**
San (h)	4,5	8,33	9,5	10,5	5,5	6,45	7	8,16	8,5	6,75	7,52±1,83
Trening (min.)	0	0	65	50	0	30	0	0	40	40	22,50±25,30

Sudeći po čimbenicima zabune, prehrani, snu i tjelesnoj aktivnosti, se najznačajnije promjene unutar CM očekuju tijekom Dana 4 i 5 te 9 i 10, dan nakon razdoblja s nadprosječnim vrijednostima unosa energije, nutrijenata, ali i sna i tjelovježbe.

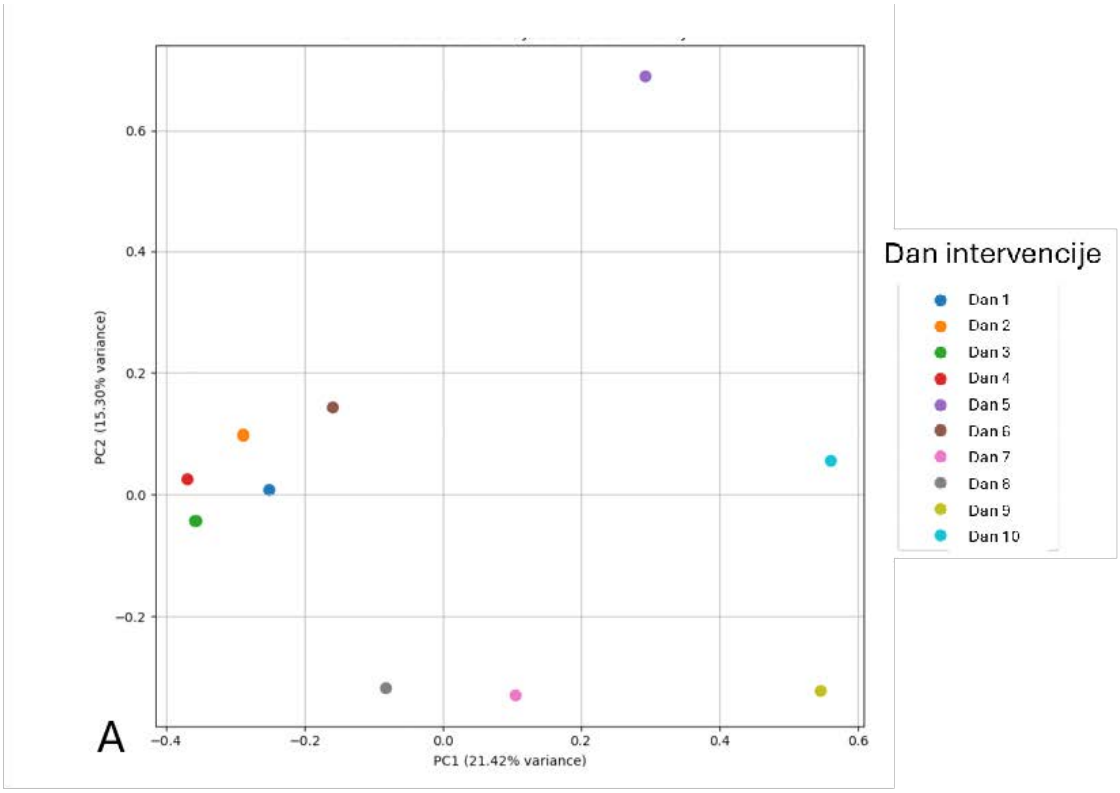
4.4.3. Promjene u CM ispitanika

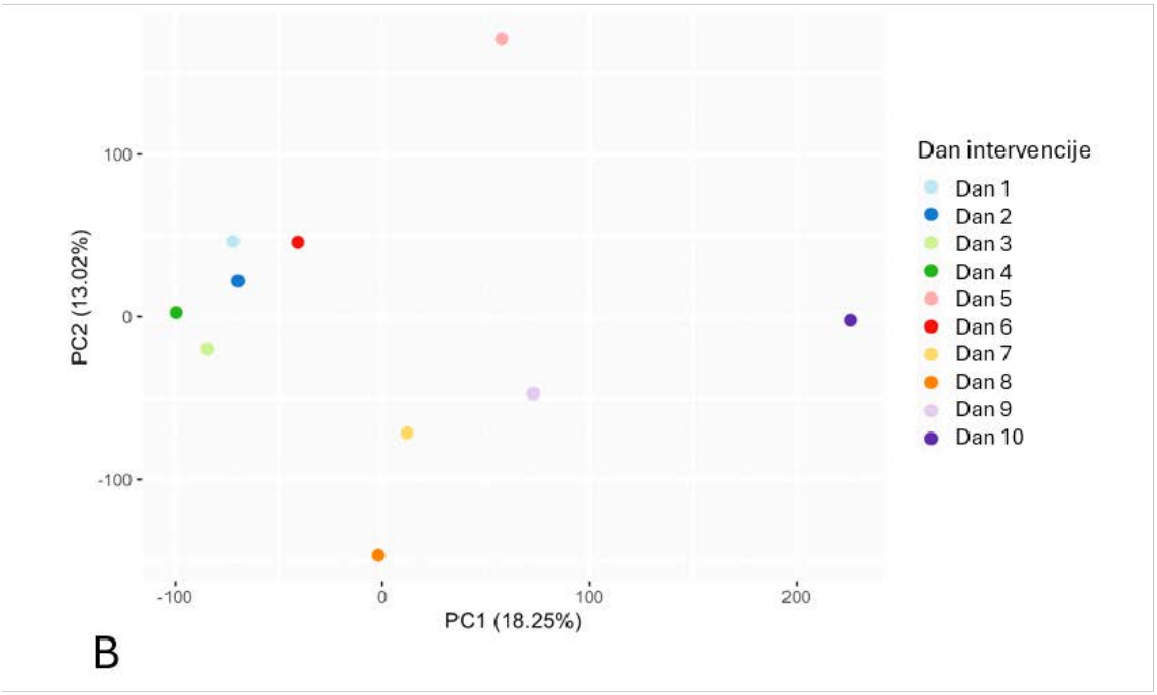
U svrhu izračuna α-raznolikosti CM korišten je Shannon indeks entropije i obrnuti Simpsonov indeks. Tijekom intervencije se prati kontinuirani pad vrijednosti α-raznolikosti koristeći obje metrike, kako Shannon tako i obrnuti Simpson indeks. S tim da je negativan trend kod obrnutog Simpson indeksa izraženiji nego kod Shannon indeksa, odnosno raspon između najviših i najnižih vrijednosti je veći kod obrnutog Simpson indeksa. Vrijednosti oba indeksa ne opadaju ravnomjerno, već su vidljive određene neočekivane razlike u smjeru i intenzitetu između određenih dana, kao što su primjerice Dan 5, 6 te 9 (Slika 18). U potvrdnoj studiji, u kojoj je ispitanik sudjelovao tri mjeseca prije provedbe longitudinalne studije, je vrijednost Shannon indeksa istog ispitanika porasla 6,94 na 7,71.



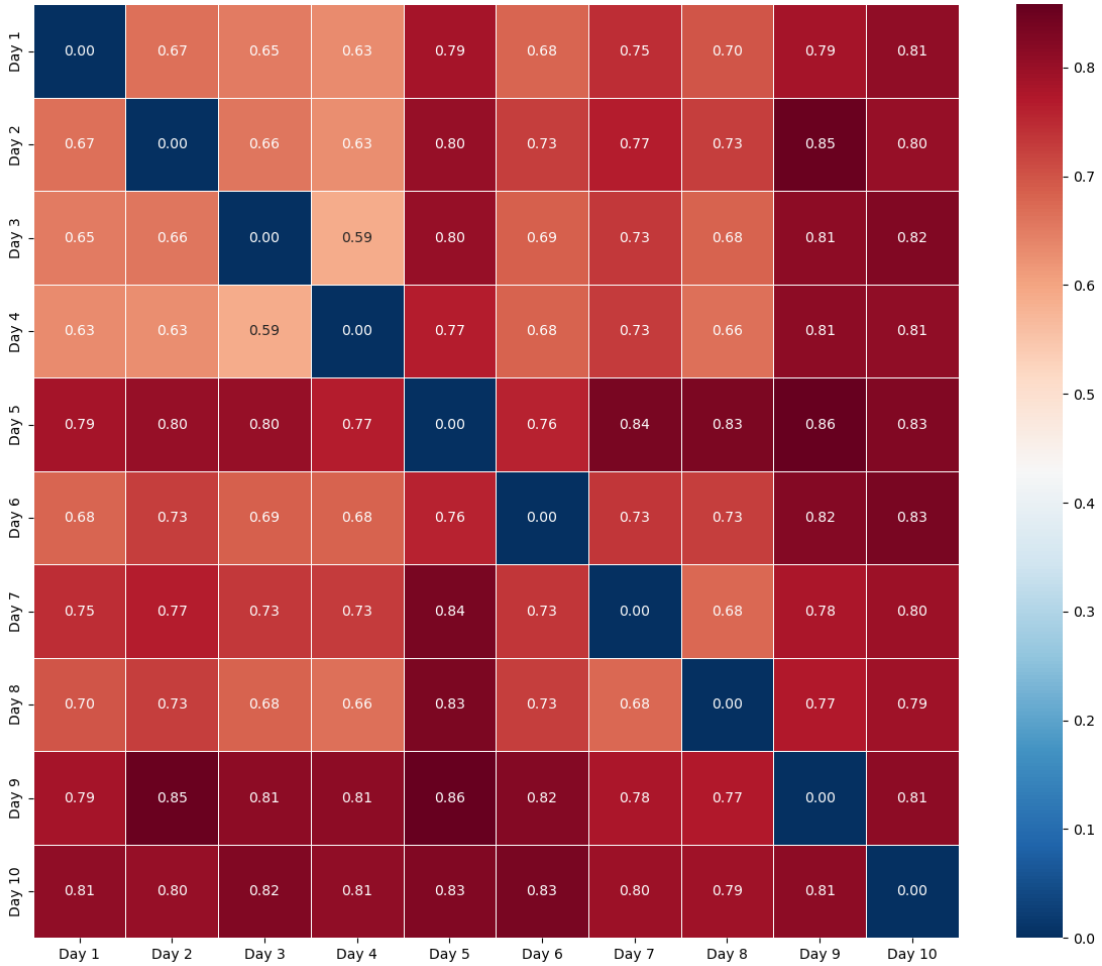
Slika 18 Promjene u α-raznolikosti crijevne mikrobiote ispitanika tijekom intervencije

Kako bi se kvantificirale razlike u cjelokupnom sastavu CM između dana, evaluirana je β-raznolikosti uzoraka kroz analizu glavnih komponenti (PCA) te izračun Bray-Curtis različitosti (Slika 19). Analizom β-raznolikosti evidentna je u obje metode izražena različitost sastava sekvencirane CM uzoraka na Dan 1 i Dan 10, kao početne i završne točke intervencije. Gledamo li sličnost sastava CM tijekom intervencije, uzorke možemo grupirati u dvije skupine: Dan 1 do 6 te Dane 7 do 10. Možemo zaključiti kako su međusobno najsličniji uzorci iz prve, početne polovice i druge, završne polovice intervencije. S time da su razlike po pitanju β-raznolikosti između pojedinačnih uzoraka veće između uzoraka u drugoj polovici u usporedbi s uzorcima iz prve polovice intervencije. Sastav CM na Dan 5 ima aberantnu vrijednost po pitanju β-raznolikost od jedne i druge skupine, što korelira i s aberantnom vrijednošću oba parametra α-raznolikosti tog uzorka. Iako inferencijalna statistička obrada podataka nije moguća u slučaju ove studije zbog ograničenja iste na jednog ispitanika, izrađena je toplinska karta ne temelju vrijednosti izračuna Bray-Curtis različitosti u svrhu bolje kvantifikacije različitosti CM između pojedinačnih dana intervencije (Slika 20). Ovom metodom je ponovno potvrđeno kako se sastav CM uzorka na Dan 5 intervencije uvelike razlikuje od svih ostalih dana intervencije (>0,76). Najsličniji jedni drugima su sastavi CM uzoraka Dan 1 do 4 (0,59-0,67). Ako izuzmemo Dan 5, jasno je vidljivo iz vrijednosti toplinske karte kako razlike u sastavu CM postaju sve izraženiji svakim danom intervencije te kulminiraju na Dan 10 (0,81 naspram Dan 1, vrijednosti između 0,79 i 0,83 naspram ostalih dana intervencije).



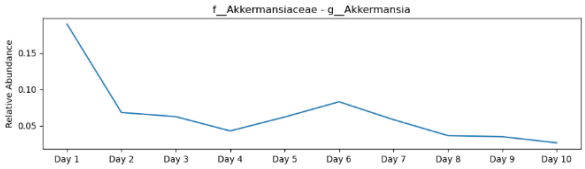


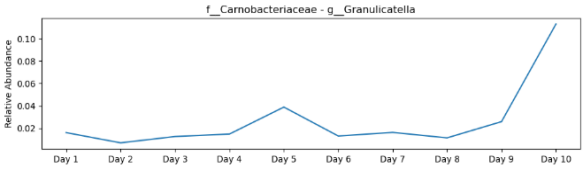
Slika 19 Promjene metrika β-raznolikost crijevne mikrobiote ispitanika tijekom intervencije (A: PCA, B: Bray-Curtis)

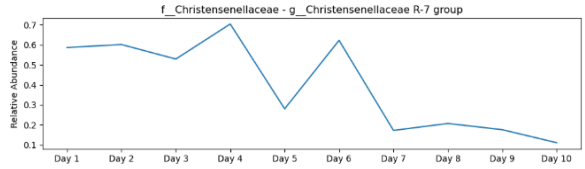


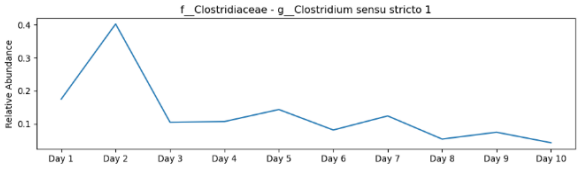
Slika 20 Toplinska karta Bray-Curtis različitosti crijevne mikrobiote ispitanika

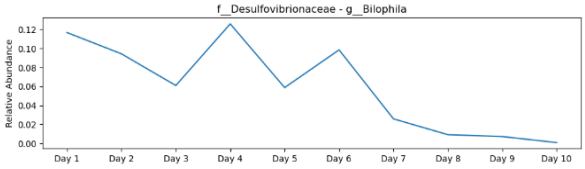
Zbog nemogućnosti inferencijalne statističke obrade, teško je analizirati promjene na razini taksonomskih skupina unutar CM uslijed intervencije. Na razini taksonomskih skupina relativni udio nijednog OTU nije se kretao u istom smjeru svaki dan intervencije. Vidi se ista neujednačenost promjena u uzastopnim danima intervencije kao i po pitanju α- i β-raznolikosti. No, uočeni su određeni trendovi po pitanju relativnih udjela određenih rodova (Slika 21). Iako postoje otkloni u suprotnom smjeru od trenda na razini svih prikazanih rodova, najčešće oko Dan 5 i Dan 6, detektirani su slični trendovi na razini više rodova istih obitelji. Tako tijekom intervencije pratimo pad vrijednosti udjela rodova iz obitelji *Akkermansiaceae*, rod *Akkermansia*, *Oscillospiraceae*, rodovi *Colidextribacter*, *UCG-002* i *UCG-005*, i *Ruminococcaceae*, rodovi *CAG-352* i *Ruminococcus*. Unutar obitelji *Lachnospiraceae* pratimo s jedne strane pad vrijednosti relativnog udjela *Coprococcus*, a s druge strane pratimo porast vrijednosti udjela bakterija iz rodova *Blautia*, *Howardella* i *Ruminococcus gauvreauii* grupa.

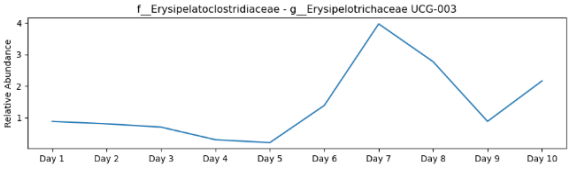

f__Akkermansiaceae - g__Akkermansia
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

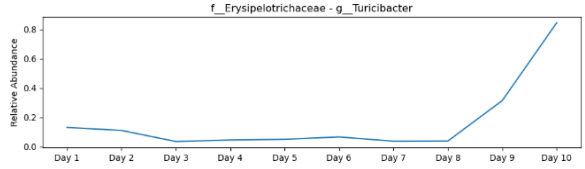

f__Carnobacteriaceae - g__Granulicatella
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

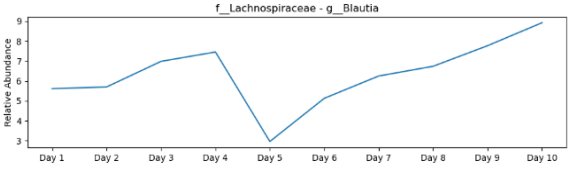

f__Christensenellaceae - g__Christensenellaceae R-7 group
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

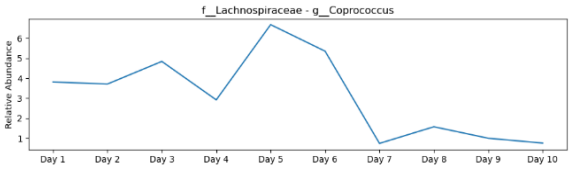

f__Clostridiaceae - g__Clostridium sensu stricto 1
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

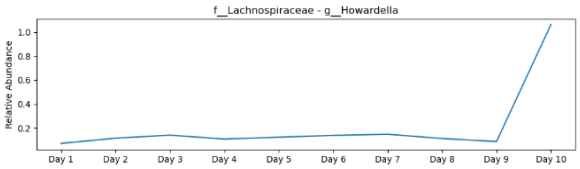

f__Desulfovibrionaceae - g__Bilophila
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

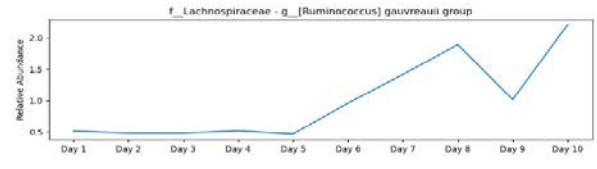

f__Erysipelatoclostridiaceae - g__Erysipelotrichaceae UCG-003
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

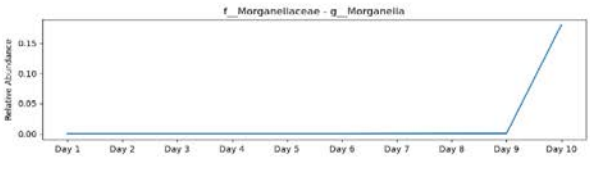

f__Erysipelotrichaceae - g__Turicibacter
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

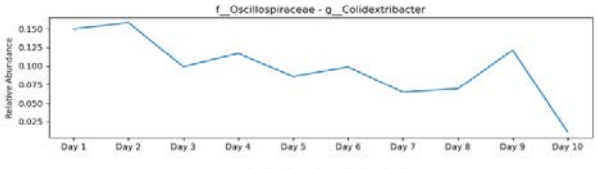

f__Lachnospiraceae - g__Blautia
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

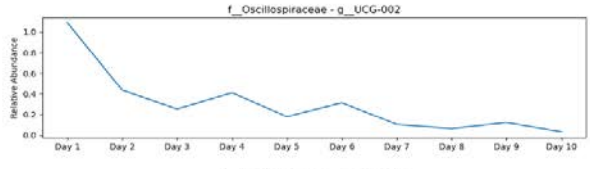

f__Lachnospiraceae - g__Coprococcus
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

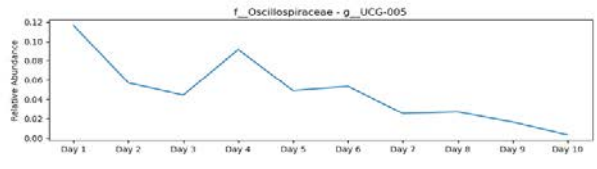

f__Lachnospiraceae - g__Howardella
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

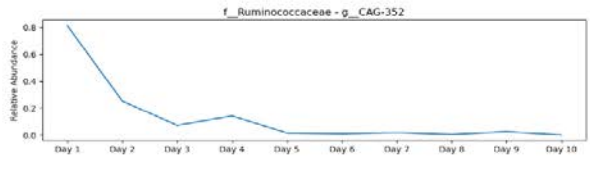

f__Lachnospiraceae - g__[Ruminococcus] gauvreauii group
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

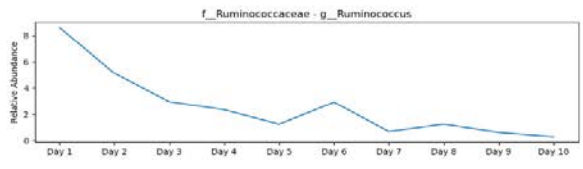

f__Morganellaceae - g__Morganella
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

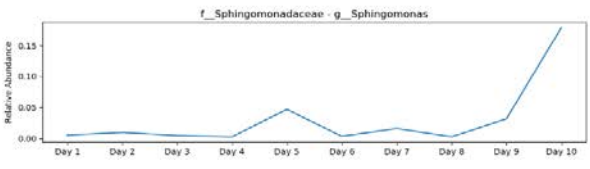

f__Oscillospiraceae - g__Colidextribacter
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

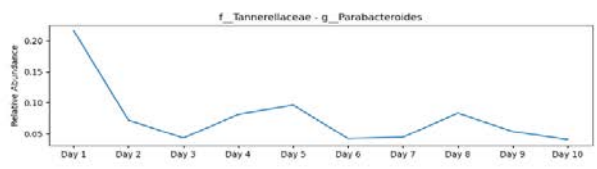

f__Oscillospiraceae - g__UCG-002
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10


f__Oscillospiraceae - g__UCG-005
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10


f__Ruminococcaceae - g__CAG-352
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10


f__Ruminococcaceae - g__Ruminococcus
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10


f__Sphingomonadaceae - g__Sphingomonas
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10


f__Tannerellaceae - g__Parabacteroides
Relative Abundance
Day 1 Day 2 Day 3 Day 4 Day 5 Day 6 Day 7 Day 8 Day 9 Day 10

Slika 21 Promjene relativnih udjela odabranih rodova crijevne mikrobiote ispitanika uslijed intervencije

4.4.4. Probava i nuspojave

Ispitanik je rad probave i evenutalne nuspojave bilježio u dnevnik istraživanja (Tablica 36) . Sedam dana po početku intervencije, ispitanik je stolicu BTS 3 i 4. Nuspojave u vidu nadutosti je naveo Dan 2, 4 i 5.

Tablica 36 Probava i nuspojave kod ispitanika tijekom intervencije

	Dan 1	**Dan 2**	**Dan 3**	**Dan 4**	**Dan 5**	**Dan 6**	**Dan 7**	**Dan 8**	**Dan 9**	**Dan 10**
BTS	4	3	3	2	3	5	5	4	3	3
Nuspojave		nadutost		nadutost	nadutost					

BTS: tip stolice po Bristol skali

5. RASPRAVA

- Učinak kiseloga kupusa na crijevnu mikrobiotu
- Učinak kiseloga kupusa na laboratorijske parametre
- Nuspojave unosa kiseloga kupusa
- Nedostatci istraživanja

Nit vodilja kroz ova istraživanja bila je ispitati potencijal kiseloga kupusa, prototipne fermentirane namirnice srednjoeuropskog podneblja, kao sinbiotika kod športaša. On je povoljan, dostupan, tradicionalan, što ga čini idealnim za primjenu kod športaša. Uz to kiseli kupus kao laktofermentirana namirnica ima svoj mikrobiom, ali i metabolom (FIJAN *i sur.*, 2024). Pretpostavke dakle za učinkovitu personalizaciju CM športaša, recimo u svrhu ostvarivanja boljih sportskih rezultata ili poboljšanja procesa oporavka i regeneracije športaša. No, iz perspektive sportske medicine i sportskog nutricionizma nedostaju znanstveni dokazi za njegovu primjenu, kao što ih recimo imamo za različite probiotske sojeve (MARTTINEN *i sur.*, 2020). Pregledom literature pronađene su samo dvije studije koje su istraživale utjecaj kiseloga kupusa na CM (NIELSEN *i sur.*, 2018; THRIENE *i sur.*, 2022), no ne i kod športaša.

Na početku smo se prilikom koncipiranja ovih istraživanja vodili ovim pitanjima:

9. Kako izgleda mikrobna zajednica kiseloga kupusa?
10. Može li uopće unos kiseloga kupusa promijeniti sastav CM športaša?
11. Je li jedna porcija kiseloga kupusa dnevno dostatna kako bi se promijenio CM?
12. Može li unos kiseloga kupusa pozitivno utjecati na odrednice CM, odnosno personalizirati sastav i funkcionalnost CM?
13. Ovisi li učinak kiseloga kupusa na CM o njezinom ishodišnom stanju?
14. Je li učinak unosa kiseloga kupusa na CM prolazan?
15. Je li primjena kiseloga kupusa kod športaša povezana s nuspojavama?

Cilj istraživanja bio je ispitati promjene u CM nakon primjene kiseloga kupusa. Pritom smo se vodili hipotezom kako će intervencija kiselim kupusom prolazno promijeniti CM športaša.

Provedeno je četiri istraživanja sveukupno.

U prvom istraživanju smo ispitali tko su bakterije koje se nalaze u kiselom kupusu kojeg smo planirali dati našim športašima-ispitanicima. Odnosno amplikon sekvenciranjem genetskog materijala bakterija unutar pet uzorka kiseloga kupusa pokušali smo odrediti mikrobnu zajednicu koja živi u, na i po kiselom kupusu. Definiranje mikrobiote kiseloga kupusa bila je prvi korak. Za razliku od prijašnjih istraživanja, gdje su rodovi s najvećim udjelima bili BMK, posebice *Lactiplantibacillus* (THRIENE *i sur.*, 2022), u kiselom kupusa koji je bio predmet istraživanja najbrojnije (više od 50% sveukupne bakterijske zajednice) su bile obligatne anaerobne bakterije poznate po metaboličkoj aktivnosti: *Bacteroides, Blautia, Faecalibacterium, Prevotella, Ruminococcus, Roseburia, Agathobacter, Fusicatenibacter,*

Lachnospiraceae (nespecifične). Dodatnom mikrobiološkom analizom, kulturološki su potvrđeni relativno niski udjeli BMK u istraživanom kupusu ($4{,}82 \cdot 10^3$ (±2,31) CFU/ml), puno manje nego što je to slučaj u komercijalno dostupnim formulacijama s rasponom od 10^7 to 10^{11} CFU/g (DORE *i sur.*, 2019; MAZZANTINI *i sur.*, 2021). To znači da istraživani kiseli kupus ne obiluje probioticima, odnosno da je sinbiotik, ali vjerojatno više obiluje pre- i postbioticima, nego konvencionalnim probioticima. Ispitanici su unosili fermentirani proizvod bogat metabolički aktivnim bakterijama, ali ne i probiotičkim BMK, tipičnim za laktofermentirane namirnice. Statističkom obradom podataka utvrđeno je dodatno kako udjeli bakterija značajno ovise o sastavu uzorka, odnosno udjelima samog kupusa kao čvrste tvari i slane otopine, rasola, što znači kako ovisno o tome koja komponenta kupusa se konzumira se unosi različita mikrobna zajednica. To je važna informacija, jer su ispitanici u istraživanjima bili upućeni konzumirati kiseli kupus i slanu otopinu sadržanu u staklenoj tegli. Da u nekom slučaju odabrana druga ambalaža (vrećica) ili način konzumacije (sa cijeđenjem) ispitanici bi potencijalno unosili druge bakterije.

Drugo istraživanje bila je studija dokazivanja koncepta (KOMS1) kiseloga kupusa kao sinbiotske fermentirane namirnice. U drugom istraživanju smo na uzorku od 10 ispitanika, profesionalnih športaša, istražili što intervencija kiselim kupusom, kako smo ju mi koncipirali na temelju dostupnih podataka iz literature po pitanju količine i trajanja, čini njihovoj CM. Pritom smo pratili i čimbenike zabune kao što su prehrana, san i trenažni proces, ali i druge mjere ishoda kao što je raznolik set laboratorijskih parametara, te probavu i nuspojave. Obradom podataka utvrđeno je kako se neovisno o početnom stanju sastav CM športaša značajno promijenio nakon intervencije sudeći po β-raznolikosti ($p<0{,}001$). Detektirano je puno skoro pa značajnih promjena relativnih udjela CM-a na razini koljena, obitelji i rodova: smanjenje udjela koljena Verrucomicrobia, smanjenje udjela obitelji *Akkermansiaceae* (p=0,049) i *Oscillospiraceae* (p=0,065) uz istovremeno povećanja udjela obitelji *Lachnospiraceae* (p=0,058), *Butyricicoccaceae* (p=0,094) i *Clostridiaceae* (p=0,096). Unutar obitelji *Lachnospiraceae* značajno su porasli udjeli *Lachnospiraceae* UCG-008, *Lachnospiraceae* UUCG-001, *Roseburia*, *Lachnospiraceae* FCS020 grupa, *Marvinbryantia*, te *Agathobacter* (prije poznat kao *Eubacterium rectale*). Unutar obitelji *Oscillospiraceae* značajno su smanjeni udjeli rodova nespecifičnih *Oscillospiraceae* i *Oscillibacter*. No, sve ove promjene na razini taksonomskih skupina pokazale su se lažno pozitivnima ($q>0{,}05$). Za razliku od taksonomskih skupina, su se brojne promjene funkcionalnih skupina pokazale zaista značajnima: 18,4% svih metaboličkih puteva bilo je značajno pogođeno intervencijom. Nakon

intervencije smanjeni su udjeli metaboličkih puteva vezanih uz sintezu staničnih stijenki i metabolizam nukleotidnih baza (purinske, pirimidinske itd.) ($p<0,043$, $q\leq0,232$). Po pitanju probave je nakon tjedana značajno porasla vjerojatnost uredne stolice (BTS 3 i 4), a najveći broj nuspojava prijavljen je Dan 5 i 6 intervencije. U laboratorijskim nalazima pratio se značajan porast postotnog udjela limfocita i značajno smanjenje koncentracije vitamina B12 u krvi.

Treće istraživanje bila je potvrdna studija (KOMS2). U trećem istraživanju (KOMS2) smo na uzorku od 11 ispitanika, sad rekreativnih športaša zbog poteškoća u regrutaciji, istražili da li će intervencija kiselim kupusom, provedena kao u studiji dokazivanja konceptu, izazvati iste ili barem slične promjene u CM športaša, a dodavanjem dodatne vremenske točke ispitane su i dugoročne posljedice intervencije. Ponovno su praćeni isti čimbenici zabune, probava i nuspojave, te laboratorijski parametri koji su značajno bili pogođeni intervencijom u drugom istraživanju. Obradom podataka utvrđeno je kako promjene u sastavu CM nakon intervencije nisu bile značajne: niti α-raznolikosti, niti β-raznolikosti. I one rijetke značajne promjene udjela taksonomskih skupina (koljeno Actinobacteria, rodovi *Bifidobacterium, Oscillibacter* i *Lachnospiraceae UCG-004)* su lažno pozitivne ($q>0,243$). Isto tako su značajne promjene po pitanju funkcionalnosti bile skromnije (5,3% svih metaboličkih puteva), a uz to i lažno pozitivne ($q= 0,708$). Potvrdna studija nije polučila istim rezultatima kao studije dokazivanja koncepta. Pokazalo se kako kiseli kupus nije imao isti učinak na CM kao u drugom istraživanju, makar je provedena identična intervencija. No, uključivanjem rezultata treće vremenske točke, mjesec dana nakon završetka intervencije, uočene su značajne promjene u sastavu i funkcionalnosti CM, većeg obujma nego dan nakon intervencije. Iako se vidjelo kako je porast α-raznolikosti nakon intervencije bio samo kratkoročan, uočeno je kako se smanjio raspon vrijednosti između uzoraka. Slična promjena vidjela se i po pitanju β-raznolikosti, odnosno mjesec dana nakon završetka intervencije sastav CM ispitanika postao je međusobno sličniji. Kad se usporede relativni udjeli taksonomskih skupina u tri vremenske točke uočene su brojne značajne promjene: vrijednosti udjela koljena Firmicutes, Actinobacteria, Lentisphaerae i Bacteroidetes ($q\leq0,045$) te sveukupno deset bakterijskih rodova ($q\leq0,047$) značajno se razlikuju uslijed intervencije. Isto vrijedi i za funkcionalne skupine unutar CM: značajne razlike uslijed intervencije detektirane su u 14 metaboličkih puteva (7,5% svih puteva) bez naznaka lažne pozitivnosti ($q\leq0,048$), i to većinom povezanih s metabolizmom nukleotidnih baza. Ovi rezultati ukazuju kako je primjena kiseloga kupusa u ovom uzorku rekreativnih športaša imala značajne dugoročne posljedice na sastav i funkcionalnost CM kod svih ispitanika, neovisno o

početnom stanju. U potvrdnoj studiji se učinak kiseloga kupusa na CM kratkoročno nije pokazao značajnim, ali su zato dugoročne posljedice unosa kiseloga kupusa po pitanju i sastava i funkcionalnosti CM bile značajne. Po pitanju probave je nakon tjedana porasla vjerojatnost uredne stolice (BTS 3 i 4), no bez statističke značajnosti, a najveći broj nuspojava prijavljen je Dan 5 i 7 intervencije. U laboratorijskim nalazima se nakon intervencije pratio porast koncentracije leukocita i smanjenje koncentracije vitamina B12 u krvi. Mjesec dana po završetku intervencije su se vrijednosti koncentracije vitamina B12 populacije normalizirale (p=0,097), a vrijednosti koncentracije leukocita skoro pa značajno dalje porasle (p=0,052).

Četvrto istraživanje bila je longitudinalna studija (KOMS3). U četvrtom istraživanju je na jednom ispitaniku praćeno kakve će promjene intervencija kiselim kupusom, provedena kao u prethodne dvije studije, na dnevnoj razini izazvati u CM. Ponovno su praćeni isti čimbenici zabune, prehrana, san i tjelovježba kao i probava i nuspojave intervencije. Deskriptivnom analizom rezultata sekvenciranja CM iz deset uzastopnih uzoraka stolice tijekom trajanja intervencije, detektirani su određeni trendovi po pitanju promjena sastava CM. Korištenjem dviju nezavisnih metrika, Shannonova i obrnutog Simpsonova indeksa, prati se negativan trend po pitanju α-raznolikosti tijekom intervencije. Korištenjem dviju metrika za β-raznolikost, vidi se kako su po sastavu međusobno najsličniji uzorci prve (Dan 1-6) i druge faze (Dan 7-10) intervencije, s time da su sastavi CM u drugoj fazi intervencije međusobno različitiji. Sastav CM se zadnji dan intervencije (Dan 10) najviše razlikuje od svih drugih dana. Po pitanju taksonomskih skupina, detektirani su također određeni trendovi: pad vrijednosti udjela roda *Akkermansia i*z obitelji *Akkermansiaceae*, tri roda iz obitelji *Oscillospiraceae*, te dva roda iz obitelji *Ruminococcaceae.* Unutar obitelji *Lachnospiraceae* pratimo istovremeno negativan trend kretanja udjela jednog roda i pozitivan trend kretanja udela druga četiri roda.

Unatoč brojnih nedostataka, ovim smo se rezultatima ipak značajno približili konkretnim odgovorima na pitanja postavljena prije početka istraživanja. Podaci iz ova četiri istraživanja daju uvid u potencijal kiseloga kupusa kao sinbiotika u prehrani športaša, ali i sportskoj medicini.

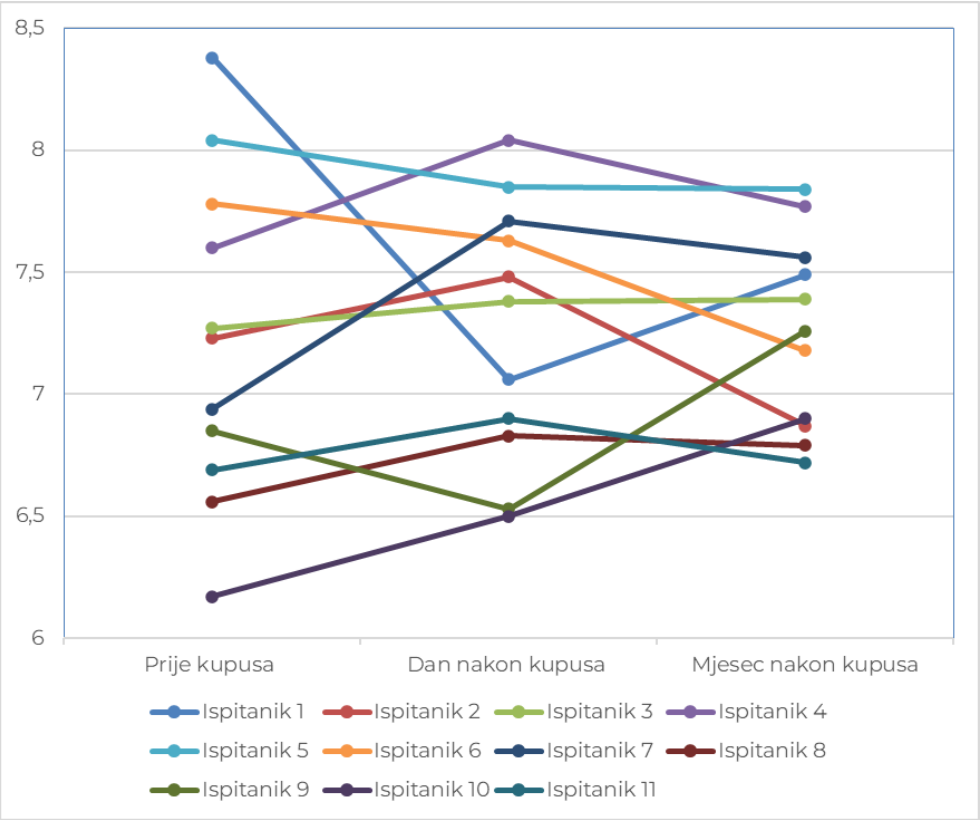
5.1. Učinak kiseloga kupusa na crijevnu mikrobiotu ispitivanih sportaša

Prvo, i najbitnije, rezultati su potvrdili kako kiseli kupus zaista može promijeniti sastav CM športaša, ukoliko ga se konzumira 250 g dnevno tijekom deset dana. Iako na temelju ovih istraživanja ne možemo procijeniti je li 250 g optimalna količina koju je potrebno unositi, minimalno trajanje unosa trebalo bi iznositi barem tjedan dana, sudeći po našim rezultatima. Indicije za to su podatak kako se nakon Dana 6 u longitudinalnoj studiji prati veći odmak u β-

raznolikosti, kako i u studiji dokazivanja koncepta i potvrdnoj studiji raste vjerojatnost za urednom stolicom nakon Dan 7 te se nakon Dan 6, u prvoj, a 7 u drugoj, bilježi smanjenje nuspojava. Ovi argumenti, svaki kao pojedinačna mjera ishoda, govore u prilog adaptaciji sastava CM na unos kiseloga kupusa nakon tjedan dana unosa istog, što je poznato i iz primjene probiotika (PYNE *i sur.*, 2015)**.** U literaturi su najkraće studije o učinku fermentiranih namirnica na CM trajale dva tjedna (VALENTINO *i sur.*, 2024). S obzirom na značajne dugoročne posljedice unosa kiseloga kupusa u potvrdnoj studiji već u trajanju od 10 dana, moguće je kako je dovoljno primijeniti kiseli kupus samo tijekom 10 dana za dugotrajne promjene u CM. No, s obzirom na razlike tipa i smjera promjena u sastavu i funkcionalnosti CM između dviju studija, a pogotovo neznačajnost promjena dan nakon intervencije u potvrdnoj studiji, čini se kako je definitivno učinkovitije produžiti trajanje unosa kiseloga kupusa. Pogotovo uzmemo li u obzir trend porasta različitosti sastava CM s trajanjem intervencije u longitudinalnoj studiji, sudeći po β-raznolikosti mjerenom Bray-Curtis metrikom. Makar možda naši rezultati upućuju kako je već i tjedan dana dostatno za prve promjene u CM, definitivno bi se kod primjene kiseloga kupusa trebalo ravnati sličnim istraživanjima na fermentiranim namirnicama kod kojih je trajanje intervencije bilo barem 2, a najčešće 4 tjedna.

Rezultati naših istraživanja ne mogu jasno odgovoriti na pitanje na koji način kiseli kupus mijenja CM, zbog čega je teško procijeniti može li kiseli kupus pozitivno utjecati na odrednice CM. Pogotovo znajući kako je generalno teško reći što bi to točno bila pozitivna promjena neke odrednice CM. Ako gledam iz perspektive disbioze kao negativne promjene CM, pozitivne promjene CM bile bi povećanje α-raznolikosti CM, povećanje udjela zdravstveno relevantnih i protuupalnih bakterija te udjela zdravstveno relevantnih metaboličkih puteva.

U obje studije unos kiseloga kupusa nije rezultirao značajnim porastom α-raznolikosti, što nije u skladu sa spoznajama iz literature o učinku fermentiranih namirnica, pa čak i kiseloga kupusa, na CM. U drugom i četvrtom istraživanju (KOMS1, KOMS3) štoviše svjedočimo padu vrijednosti parametara α-raznolikosti. No, pregledom rezultata potvrdne studije (KOMS2) uočava se kako se uslijed intervencije smanjuje raspon vrijednosti Shannon indeksa: početno raspon iznosi 6,17 -8,38, a mjesec dana nakon intervencije iznosi 6,79-7,84. Kada gledamo kretanje vrijednosti pojedinih ispitanika KOMS1, ali i KOMS2 (Slika 22), vidimo kako se α-raznolikost ispitanika s relativno visokim vrijednostima Shannon indeksa smanjuje nakon intervencije, a onih s nižim ili prosječnim vrijednostima povećava.



Slika 22 Promjene u α-raznolikosti crijevne mikrobiote ispitanika u tri vremenske točke (Shannon indeks)

Dobru ilustraciju ove opservacija pruža ispitanik koji je sudjelovao kako i u KOMS2, tako i u KOMS3: u KOMS2 njegova vrijednost Shannon indeksa raste s 6,94 na 7,71, a u KOMS3 pada s 7,98 na 7,27. Ovaj fenomen bi mogao objasniti i dijametralnu razliku između rezultata KOMS1 i KOMS2 po pitanju α-raznolikosti: u KOMS1 sudjelovali su profesionalni športaši s relativno višim vrijednostima Shannon indeksa, koje su nakon unosa kiseloga kupusa padale, a u KOMS2 rekreativni športaša s relativno nižim vrijednostima Shannon indeksa, kojima su nakon kiseloga kupusa vrijednosti rasle. Unos kiseloga kupusa u količini od 250g tijekom deset dana kao da korigira α-raznolikost: visoku smanjuje, a nisku povećava, odnosno njegov učinak na raznolikost CM ovisi o početnoj raznolikosti. Ovaj fenomen, odnosno dvosmjeran učinak na raznolikost CM, viđeno je i kod nekih sojeva probiotika (ÉLIÁS *i sur.*, 2023; VAN ZANTEN *i sur.*, 2024). Ako znamo kako je prekomjerna raznolikost CM, isto kao i niska, povezana s disbiozom i nekim patološkim stanjima, kao što su neke onkološke i neurološke bolesti (ISLAM *i sur.*, 2022; LI *i sur.*, 2022), se smanjenje α-raznolikosti nakon kiseloga kupusa ne doima

problematičnim po zdravlje športaša. Rezultati istraživanja sugeriraju kako je djelovanje kiseloga kupusa na raznolikost CM pozitivno.

Unos kiseloga kupusa nije rezultirao istim promjenama u sastavu CM. Ako analiziramo promjene prouzročene unosom kiseloga kupusa po pitanju sastava CM, pogotovo relativnih udjela različitih taksonomskih skupina, slika postaje iznimno složena. Prvi zaključak istraživanju, koji nije u skladu s dosadašnjim spoznajama iz literature o fermentiranim namirnicama i njihovom učinku na CM, je kako unos ovog specifičnog kiseloga kupusa nije rezultirao porastom udjela BMK. No, s obzirom na mikrobnu zajednicu kiseloga kupusa, sekvenciranu u prvom istraživanju, ali i broj BMK dokazan kulturološkim pristupom ovaj rezultat nije neočekivan. Zbog načina proizvodnje, primarno pasterizacije, je vjerojatno inicijalni broj BMK manji nego u formulacijama probiotika ili fermentiranim proizvodima istraživanim u drugim studijama koji bi mogao potencijalno kolonizirati CM. Ako gledamo rezultate istraživanja KOMS1 upravo su najbrojnije bakterije unutar mikrobne zajednice kiseloga kupusa odgovorne za promjene sastava CM u smislu kolonizacije: unosom kiseloga kupusa značajno rastu udjeli rodova *Roseburia, Agathobacter* i drugih bakterija iz obitelji *Lachnospiraceae.* Porast relativnih udjela ovih bakterija odvija se u KOMS1 nauštrb udjela bakterija iz obitelji *Akkermansiaceae* i *Oscillospiraceae*. Slične promjene vide se u trendovima prikazanim u istraživanju KOMS3: porast nekoliko rodova iz obitelji *Lachnospiraceae,* uz istovremeno smanjenje udjela rodova iz obitelji iz obitelji *Akkermansiaceae* i *Oscillospiraceae.* No, zanimljivo je kako se sastav CM istog ispitanika (Ispitanik 7) drugačije mijenja u istraživanju KOMS2 naspram KOMS3, slično kao i promjene α-raznolikosti njegove CM u KOMS2 i KOMS3. Isto tako se, sudeći po rezultatima statističke obrade podataka, i značajne promjene sastava CM ispitanika dijametralno razlikuju između KOMS1 i KOMS2. Dok u KOMS2 nakon intervencije značajno raste relativni udio roda *Oscillibacter,* u KOMS1 relativni udio iste bakterije nakon intervencije pada. S druge strane udio roda *Lachnospiraceaes UCG-001* u KOMS1 raste, a u KOMS2 značajno pada. I udjeli bakterija, koje bi porijeklom iz mikrobne zajednice kiseloga kupusa mogle, bilo kratko- ili dugoročno, kolonizirati CM u KOMS2 značajno padaju dan, ali i mjesec nakon završetka intervencije: *Ruminococcus, Blautia, Lachnospiraceae (nespecifične)* i *Subdoligranulum.* Rezultati sugeriraju kako se unosom kiseloga kupusa, bogatog ovim bakterijama, smanjuje njihov udio u ukupnom CM domaćina. U longitudinalnom istraživanju KOMS3 je ova opservacija potvrđena u pogledu udjela *Ruminococcus,* ali ne i *Blautia.* S obzirom na složenost CM ovakva odstupanja u rezultatima u pogledu promjena udjela taksonomskih skupina nije neočekivana. No, kako je

intervencija provedena na isti način u KOMS1 i KOMS2, bez značajnih promjena u čimbenicima zabune prije i tijekom intervencije u oba istraživanja (osim unosa vlakana zbog kiseloga kupusa), varijable odgovorne za gore opisana odstupanja između KOMS1 i KOMS2 mogu biti samo dvije: razlike u kiselom kupusu uvjetovane godinom proizvodnje (2022. i 2023. godina), jer su mjesto i način proizvodnje bili isti obje godine, te razlike u početnom sastavu CM ispitanika jedne i druge studije. Pošto su promjene udjela taksona, pogotovo obitelji, u KOMS1 i KOMS3 slične, mala je vjerojatnost kako je upravo godina proizvodnje kupusa razlog za dijametralne razlike u taksonomskim promjenama između KOMS1 i KOMS2. Slično kao i kod mnogih probiotika i drugih fermentiranih namirnica (ROSELLI *i sur.*, 2021; CHANDRASEKARAN *i sur.*, 2024), razlike u izazvanim promjenama sastava CM najvjerojatnije su posljedica razlika prisutnih u sastavu CM prije početka intervencije. Na temelju naših rezultata možemo zaključiti kako kiseli kupus sastav CM zasigurno mijenja ovisno od početnog stanja: primjena kiseloga kupusa može rezultirati porastom ili smanjenjem udjela iste bakterije, ovisno o početnoj situaciji. Isto kao što kiseli kupus smanjuje ili povećava α-raznolikost ovisno o ishodišnom stanju, tako mijenja i udjele taksonomskih skupina. To je mogući razlog zašto je promjena u β-raznolikosti u KOMS1 nakon intervencije značajna, a u KOMS2 ne. U KOMS1 su uključivani predominantno profesionalni športaši čiji je CM po sastavu međusobno sličniji, nego što je to slučaj kod rekreativnih športaša kod kojih učinak intenzivnog bavljenja sportom na CM nije toliko izražen. Zbog manje heterogenosti u sastavu CM profesionalnih športaša, odnosno sličnijih vrijednosti relativnih udjela taksona, više promjena izazvanih kiselim kupusom išlo je u istom smjeru. Ova heterogenost sastava CM u KOMS2 vidljiva je i po pitanju β-raznolikosti prije i nakon intervencije gdje se izdvajaju dvije, međusobno slične skupine po sastavu CM, kako prije, tako i nakon intervencije. Vjerojatno su određene pozitivna promjene u relativnim udjelima taksonomskih skupina zabilježene u KOMS1 i KOMS3, bile vidljive i kod pojedinih ispitanika u KOMS2, ali te promjene nisu bile značajne s obzirom na zajedničku obradu podataka svih ispitanika iz KOMS2.

Jedna takva pozitivna promjena, viđena kako i u KOMS1 i KOMS3, ali i kod pojedinih ispitanika u KOMS2 je porast relativnog udjela obitelji *Lachnospiraceae.* Članovi ove obitelji naime smatraju se glavnim proizvođačima kratkolančanih masnih kiselina (SCFA) unutar CM (VACCA *i sur.*, 2020). Obitelj *Lachnospiraceae* je filogenetski i morfološki heterogena skupina koja pripada klostridijalnom klasteru XIVa iz koljena Firmicutes (STACKEBRANDT, 2014a). Svi članovi *Lachnospiraceae* su anaerobni, fermentativni i kemoorganotrofni, a neki pokazuju snažne hidrolizne aktivnosti, npr. kroz aktivnost pektin metil-esteraze, pektat liaze, ksilanaze,

α-L-arabinofuranozidaze, β-ksilozidaze, α- i β-galaktozidaze, α- i β-glukozidaze, N-acetil-β-glukozaminidaze ili α-amilaze (BIDDLE *i sur.*, 2013). Vrste unutar obitelji *Lachnospiraceae* koriste polisaharide porijeklom iz prehrane, uključujući škrob, inulin i arabinoksilan za proizvodnju butirata i drugih SCFA (STACKEBRANDT, 2014b). Zanimljivo je kako su u KOMS1 detektirane značajne promjene u funkcionalnom modulu bakterijskog metabolizma šećera i ugljikohidrata nakon intervencije s kiselim kupusom, iako one mogu biti lažno pozitivne.

Analiza sastava mikrobne zajednice samog kiseloga kupusa otkrila je kako su brojni članovi obitelji *Lachnospiraceae*, posebno *Blautia, Roseburia* i *Agathobacter,* prisutni s visokim relativnim udjelima. Očigledno je kiseli kupus izvrstan medij za ove bakterije, zbog čega dolazi do njihove kolonizacije CM nakon unosa kiseloga kupusa. No, iz naših istraživanja evidentno je kako je optimalan sastav CM preduvjet za njihovu kolonizaciju.

Na primjeru obitelji *Lachnospiraceae* vidimo iz naših istraživanja kako kiseli kupus može pozitivno utjecati na sastav, odnosno povećanje relativnih udjela bakterija povezanim sa zdravom CM, ali i funkcionalnost, kroz promjene udjela metaboličkih puteva i funkcionalnih modula.

5.2. Učinak kiseloga kupusa na laboratorijske parametre krvi ispitivanih športaša

Dodatna potvrda tvrdnje, kako je kiseli kupus u našim istraživanjima pozitivno utjecao na CM športaša, su značajne pozitivne promjene u istim laboratorijskim parametrima u KOMS1 i KOMS2. Dok je nakon intervencije u KOMS1 značajno porastao postotak limfocita, u KOMS je značajno porasla koncentracija leukocita. U oba istraživanja prati se značajan pad koncentracije B12.

Iako se povećanje koncentracije leukocita ili postotka limfocita uobičajeno povezuje s određenim patološkim stanjima poput (virusnih) infekcija, hematoloških i kroničnih upalnih stanja, vrijednosti u našim istraživanjima nakon intervencije nisu dosegle razine tipične za takva stanja (CHAKROUN *i sur.*, 2021). No, poznato je kako neki članovi CM i njihovi metaboliti imaju potencijal poticanja proliferacije B i T limfocita u limfoidnom tkivu povezanim s crijevima (GALT) (CHEN i KASPER, 2014). Utvrđeno je kako pro-, pre- i sinbiotici pojačavaju imunološki odgovor i potiču proliferaciju i aktivnost limfocita (ROUSSEAUX *i sur.*, 2023) Unosom kiseloga kupusa kao sinbiotika došlo je do pozitivnih promjena unutar CM, ali i direktne interakcije njegovih komponenti (pro- , pre- i postbiotici) s imunosnim sustavom, što je rezultiralo

značajnim povećanjem broja leukocita, odnosno limfocita, ovisno o tome koje su prirode bile promjene u CM (KOMS2, odnosno KOMS1).

Koncentracija vitamina B12 u krvi ovisi o prehrambenom unosu (FARQUHARSON i ADAMS, 1976) i proizvodnji u CM (MAGNÚSDÓTTIR *i sur.*, 2015). Najvažniji proizvođači B12 su *Pseudomonas denitrificans, Klebsiella pneumoniae, Lactobacillus reuteri* i *plantarum, Clostridium difficile* i *butyricum, Fusobacterium* spp. te *Akkermansia muciniphila*. Značajno koncentracije vitamina B12 moglo bi se pripisati značajnom smanjenju udjela obitelji *Akkermansiaceae*, uključujući člana *Akkermansia muciniphila* u KOMS1 i KOMS3. Drugo moguće objašnjenje moglo bi biti da je povećanje udjela obveznih anaeroba iz roda *Lachnospiraceae,* viđeno u KOMS1 i KOMS3, bilo na račun smanjenja udjela potencijalno patogenih fakultativnih anaeroba, poput *Pseudomonas, Klebsiella* i *Fusobacterium,* koji proizvode vitamin B12. Veće koncentracije vitamina B12 povezane su s razvojem kolorektalnog karcinoma (ARENDT *i sur.*, 2013), a uzrok tomu vjerojatno leži u CM. Stoga je pad koncentracije vitamina B12 vjerojatno još jedan dokaz pozitivnih promjena u CM uslijed unosa kiseloga kupusa.

Kiseli kupus mijenjajući sastav CM očito ima imunomodulatorni potencijal, ali i antitumorski potencijal, kao i mnoge druge fermentirane namirnice (PYO *i sur.*, 2024).

Dugotrajnost promjena izazvanih CM ispitana je isključivo u studiji dokazivanja koncepta (KOMS2). Ukoliko se gledaju promjene u CM u tri (prije, dan i mjesec nakon intervencije) u odnosu na dvije vremenske točke (prije i dan nakon intervencije) uočava se puno veći broj značajnih promjena u tri vremenske točke. Po pitanju α-raznolikosti vidimo još veće smanjenje raspona vrijednosti, po pitanju β-raznolikosti još sličniji sastav CM, i veći broj značajnih promjena po pitanju relativnih udjela koljena (5 naspram 1), rodova (34 naspram 3), i metaboličkih puteva (14 naspram 10). Iako su uzorci CM uzimani nakon mjesec dana faze ispiranja, stječe se dojam kao da je intervencija i dalje trajala. Naravno neke promjene zabilježene dan nakon prestanka intervencije, su se povratila nakon faze ispiranja: padaju medijalne vrijednosti α-raznolikosti i F/B omjera, udjeli nekih rodova nakon pada ponovno značajno rastu (nespecifične *Rhodospirillales* (r=0,634)), dok drugi obrnuto nakon porasta ponovno značajno opadaju (*Lachnospiraceae* NK4A136 grupa (r=-0,627)). No, uzmemo li u obzir sve gore navedene promjene, pogotovo one značajne, ne lažno pozitivne, po pitanju sastava i funkcionalnosti CM možemo zaključiti kako je potvrdna studija pokazala kako unos 250g kiseloga kupusa dnevno u trajanju od samo 10 dana može izazvati promjene u CM koje

će biti vidljive čak i nakon mjesec dana razdoblja bez ciljane, svakodnevne konzumacije kiseloga kupusa. Naše istraživanje sugerira kako učinak kiseloga kupusa na CM nije prolazan, barem mjesec dana.

5.3. Nuspojave unosa kiseloga kupusa kod ispitivanih športaša

Gore opisane promjene u CM izazvane unosom kiseloga kupusa prate i nuspojave. U oba istraživanja praćene su samo epizode probavnih nuspojava na dnevnoj razini, te je učestalost epizoda izračunata naspram svih dana svih ispitanika (KOMS1=100 dana, KOMS2=110 dana) (Tablica 37). Našim istraživanjima su pokazali kako je uslijed primjene kiseloga kupusa u dozi od 250g tijekom 10 dana najveća vjerojatnost razvoja nadutosti (oko 16%), uz puno manju vjerojatnost proljeva (3,3%) ili bolova u trbuhu (2,3%). Činjenica kako su ispitanici u KOMS2 navodili i zatvor i mučnina kao nuspojavu za razliku od ispitanika u KOMS1 se može povezati i s većom heterogenošću sastava njihovih CM prije i dan nakon intervencije u usporedbi s ispitanicima iz KOMS1. Bitno je napomenuti kako nakon tjedan dana intervencije broj epizoda nuspojava drastično pada, te je na Dan 8, 9 i 10 intervencije u oba istraživanja naveden minimalan broj nuspojava (jedan ispitanik po danu) te su sve nuspojave u tom razdoblju isključivo nadutost ili bol u trbuhu.

Kiseli kupus, kao i sve drug fermentirane namirnice, su po definiciji sinbiotik jer uslijed fermentacije sadrže i pro- i prebiotike. Unos i pro- i prebiotika povezan je s probavnim nuspojavama (RAU *i sur.*, 2024), te su one kod probiotika posebice dobro dokumentirane u meta-analizama pri njihovoj primjene kod kroničnih upalnih bolesti crijeva i sindroma iritabilnog kolona (FORD *i sur.*, 2018; DORE *i sur.*, 2019) Kod prebiotika su one posljedica njihovog osmotskog učinka, te ovise o veličini molekule koja uvjetuje fermentabilnost, načinu unosa (doziranje), radu probave te sastavu CM koji će isti fermentirati (PIER *i sur.*, 2020). Mehanizmi kojima probiotici izazivaju probavne tegobe nisu razjašnjene u potpunosti (PACE *i sur.*, 2020). Mogući uzroci probavnih tegoba kod probiotika su: povećanje obujma fermentacija uslijed njihovog unosa, posljedične povećane proizvodnje SCFA koje imaju osmotski učinak, te njihova interakcija sa CM (CHANDRASEKARAN *i sur.*, 2024). Razvoj probavnih nuspojava kod probiotika ovisi o primijenjenom soju, dozi, zdravlju probave (funkcionalni ili upalni poremećaj), te sastavu CM (DORE *i sur.*, 2019). Smanjenje učestalosti nuspojava, ali i tip nuspojava koji se javlja nakon tjedan dana primjene kiseloga kupusa, sugerira kako prilikom primjene kiseloga kupusa treba računati na adaptaciju cjelokupnog probavnog sustava, a posebice CM, nešto što poznajemo i iz primjene probiotika (JÄGER *i sur.*, 2019). U prilog

adaptaciji probave na unos kiseloga kupusa, govori i porast vjerojatnosti uredne stolice (BTS 3 i 4) nakon tjedan dana intervencije u oba istraživanja, koji je u KOMS1 bio čak i značajan ($p \leq 0{,}011$). Tako da možemo zaključiti kako je primjena kiseloga kupusa kod športaša povezana s nuspojavama jer se ipak radi o sinbiotiku, ali nakon faze adaptacije dolazi do smirivanja istih.

5.4. Nedostaci provedenog istraživanja

Zbog velikog broja ograničenja istraživanja, poglavito malenog broja uključenih ispitanika, formiranje jasnih kliničkih preporuka je onemogućeno. Teško je procijeniti koji bi športaš i njegova CM profitirali od primjene kiseloga kupusa, odnosno od intervencije unosa 250g kiseloga kupusa tijekom deset dana. Zbog tog preporuke u nastavku trebaju biti uzeti s najvećim mogućim oprezom.

Fermentirane namirnice se generalno smatraju vrlo kvalitetnim izborom u smislu funkcionalne hrane, ponajviše zbog njihove sinbiotske prirode (MARCO *i sur.*, 2017). Tako da bi sudeći po literaturi, generalno svakom športašu dobro došao dodatan unos kiseloga kupusa. Iako je teško definirati što je optimalan sastav i funkcionalnost CM zbog velikih interindividualnih razlika, našim istraživanjima smo dokazali kako velikoj većini športaša unos kiseloga kupusa dobro dođe. Profesionalni športaši, ispitanici KOMS1, su nakon intervencije kiselim kupusom dobili CM optimalnijeg sastava po pitanju metabolički aktivnih bakterija, a time i optimalniju funkcionalnosti. Rekreativni športaši, ispitanici KOMS2, su nakon intervencije dobili CM optimalnijeg sastava i funkcionalnosti, ovisno o tome kakva im je CM bila početno. Iako možda učinak kiseloga kupusa na CM nije bio identičan, laboratorijski parametri i rad probave ukazuju na sličan učinak na obje populacije. Uzastopnim analizom CM športaša mogla bi se pratiti učinkovitost intervencije kiselim kupusom, te predvidjeti kretanje specifičnih odrednica CM kao što su α-raznolikost i neke taksonomske skupine. Laboratorijskom obradom krvi, konkretno diferencijalne krvne slike i određivanja B12, dobila bi se dodatna potvrda kako športaš ima koristi od unosa kiseloga kupusa.

Preporuka za minimalno trajanje unosa kiseloga kupusa za pozitivne rezultate je minimalno tjedan dana, kao što smo pokazali longitudinalnom studijom te promjenama u radu probave i nuspojavama u KOMS1 i KOMS2. Toliko s jedne strane traje faza adaptacije, a s druge strane su se u longitudinalnoj studiji od sedmog dana nadalje β-raznolikost počela razlikovati između uzoraka. Naši rezultati sugeriraju kako se već nakon kratkotrajnoj razdoblja primjene kiseloga kupusa mogu očekivati pozitivni ishodi iste. Što dodatno potvrđuju značajne razlike u

laboratorijskim parametrima u oba istraživanja. No, s obzirom na razlike u rezultatima između KOMS1 i KOMS2 je vjerojatno kod heterogenih sastava CM potrebno duže vrijeme unosa kiseloga kupusa kako bi se vidjele značajne promjene na razini cijele populacije ispitanika. Sudeći po znanstvenoj literaturi na temu modulacije CM fermentiranim namirnicama (STIEMSMA *i sur.*, 2020), idealno trajanje intervencije bilo bi četiri tjedna. Promjene koje kiseli kupus izaziva u CM vidljive su u sastavu i funkcionalnost CM još mjesec dana nakon završetka njegovog unosa. Što znači da u svrhu potencijalnog učinka na CM kiseli kupus ne mora biti konzumiran tokom cijele godine, odnosno kad zbog sezonalnosti proizvodnje nije dostupan.

Preporuku za minimalnu količinu kiseloga kupusa potrebnu za personalizaciju CM športaša na temelju rezultati naših istraživanja nije moguće dati, jer je to stavka, koja za razliku od trajanja intervencije, nije modificirana među različitim istraživanjima. U našim istraživanjima korištena je doza od 250g kiseloga kupusa dnevno. Populacija Južne Koreje, koja tradicionalno konzumira triput dnevno kimchi, korejsku inačicu kiseloga kupusa, u 2012. je u prosjeku pojela oko 110 g ove fermentirane namirnice dnevno (KIM *i sur.*, 2020). Što znači da su ispitanici naših istraživanja jeli više od dvostruku količinu fermentirane namirnice nego prosječni stanovnik Južne Koreje koji tijekom cijelog života jede tri porcije takve hrane uz svaki obrok. Prilikom konceptualizacije studije dokazivanja koncepta količina je bazirana na preporučenoj porciji salate u sklopu zdrave i uravnotežene prehrane od 200g (CARRUBA *i sur.*, 2023). No, uzmemo li u obzir vjerojatnost od 16% da će netko od ispitanika tijekom trajanja intervencije razviti nadutost uslijed unosa kiseloga kupusa, klinička je preporuka definitivno smanjiti količinu unesenog kiseloga kupusa. Pogotovo uzmemo li obzir dnevnu količinu koju konzumiraju Korejci, čija je probava i CM od djetinjstva adaptirana na unos fermentirane hrane, bogate biogenim aminima i drugim komponentama koje mogu izazvati probavne tegobe (SAHA TURNA *i sur.*, 2024). Možda bi upravo smanjenje količine umanjilo i vjerojatnost razvoja nuspojava, 3% u našim istraživanjima, nakon faze adaptacije CM na kiseli kupus. Otvoreno je pitanje da li bi smanjenje količine kiseloga kupusa imalo reperkusije na njegov učinak na CM, no s obzirom na gore navedenu preporuku produživanja unosa vjerojatno bi smanjena količina mogla izazvati isti učinak.

Najveći nedostatak ovih istraživanja je malen broj uključenih ispitanika, kako u KOMS1 i KOMS2, tako i KOMS3. Pored ograničenih resursa, najveći izazov je bio uključivanje profesionalnih športaša u istraživanje. Zbog tog je u KOMS1 bilo nužno uključiti i žensku ispitanicu, a u KOMS2 uključiti i rekreativne, aktivne športaše. Zbog tog je velik broj lažno

pozitivnih rezultata po pitanju promjena unutar CM, pogotovo u pogledu taksonomskih skupina prije i nakon intervencije.

Drugi nedostatak istraživanje je što je korišten kiseli kupus organskog porijekla, proizveden bez primjene prehrambenih aditiva. Većina komercijalno dostupnih proizvoda s kiselim kupusom, sadržavaju i kalijev sorbat, konzervans s antimikrobnim djelovanjem. Veliko je pitanje da li bi tako proizveden kiseli kupus mogao polučiti istim rezultatima. Po pitanju kiseloga kupusa je i veliki nedostatak što je isti pasteriziran, zbog čega je mikrobna zajednica finalnog proizvoda zasigurno izmijenjena.

Po pitanju koncepta istraživanja nedostatak je što je u svim istraživanjima korištena intervencija relativno kratkog trajanja, s obzirom na druge intervencijske studije na CM, i s istim količinama kiseloga kupusa. Zbog toga nedostaju mnogi važni podaci za izradu konciznih kliničkih preporuka.

Daljnje ograničenje istraživanja je tehnološki uvjetovano prirodom amplikon sekvenciranja: u analizi mikrobne zajednice kiseloga kupusa, ali i uzoraka stolice ispitanika nije moguće razlikovati između živih, aktivnih i neživih bakterija. Odnosno u uzorcima kiseloga kupusa nedostaje informacija koji su članovi mikrobne zajednice kod ispitivanih športaša aktivni i sposobni kolonizirati CM, a uzorcima stolice ne možemo razlikovati koje su bakterije zaista članovi CM ispitanika, a koje su bakterije porijeklom iz kiseloga kupusa. Drugi tehnološki nedostatak je činjenica kako je kao metoda korištena sekvenciranje amplikona 16S rRNA, a ne trenutni zlatni standard u literaturi sekvenciranja cijelog genoma („whole-genome-sequencing“, WGS).

Drugi nedostatak istraživanja je činjenica kako nisu ispitane posljedice promjena u CM na sportsku izvedbu športaša: izdržljivost, snagu ili neki drugi aspekt zdravstvenog statusa športaša. S obzirom na izazove prehrane športaša, promjene u CM kao takve zasigurno nisu dostatan razlog za uvođenje kiseloga kupusa u prehranu, bilo kao kratkotrajna intervencija bilo dugoročna intervencija.

Dubinski problem ovih istraživanja je činjenica kako je i dalje vrlo diskutabilno što je optimalna CM. Na primjeru α-raznolikosti, na koju primjena kiseloga kupusa može očito pozitivno ili negativno utjecati, vidimo osnovnu problematiku istraživanja na temu modulacije CM. Nemamo referentne vrijednosti α-raznolikosti za opću populaciju, od koje otkloni mogli biti interpretirani kao disbioza, patološko stanje CM. A kamoli športaše. Stoga tvrdnje povezane s opservacijom kako su promjene pozitivne po CM treba tumačiti u kontekstu mnogih čimbenika.

Buduća istraživanja trebala bi istražiti potencijalne učinke kiseloga kupusa na crijevnu mikrobiotu aktivnih športaša ukoliko se primjenjuje dulje i u manjim količinama. Također bi trebala istražiti koliko dugo promjene izazvane unosom kiseloga kupusa ostaju značajne. Potencijalno bi se moglo istražiti da li je konzumacije slane otopine kiseloga kupusa, rasola, jednako učinkovita po pitanju modulacije crijevne mikrobiote kao što je kiseli kupus.

6. ZAKLJUČCI

U ovom radu istraživan je učinak unosa kiseloga kupusa na crijevnu mikrobiotu, probavu i laboratorijske parametre aktivnih športaša, te su praćeni čimbenici zabune koji bi mogli utjecati na rezultate kao što su prehrana, san i fizička aktivnost.

Iz analize rezultata ove disertacije može se zaključiti slijedeće:

1) istraživani kiseli kupus ima mikrobnu zajednicu bogatu metabolički aktivnim bakterijama
2) istraživani kiseli kupus ima mikrobnu zajednicu siromašnu bakterijama mliječne kiseline
3) sastav mikrobne zajednice kiseloga kupusa ovisi o udjelu krutei tekuće komponente, odnosno kupusa i slane otopine (rasola)
4) kiseli kupus konzumiran tijekom deset dana u količini od 250g dnevno ne utječe značajno na α-raznolikost crijevne mikrobiote kod profesionalnih sportaša
5) kiseli kupus konzumiran tijekom deset dana u količini od 250g dnevno kod profesionalnih športaša utječe značajno na sastav i funkcionalnost crijevne mikrobiote
6) kiseli kupus konzumiran tijekom deset dana u količini od 250g dnevno kod rekreativnih športaša ne utječe značajno na sastav i funkcionalnost crijevne mikrobiote
7) kiseli kupus konzumiran tijekom deset dana u količini od 250g dnevno kod rekreativnih športaša izaziva značajne dugoročne promjene na razini sastava i funkcionalnosti crijevne mikrobiote
8) kiseli kupus konzumiran tijekom deset dana u količini od 250g dnevno kod aktivnih športaša izaziva promjene ovisne o početnom sastavu crijevne mikrobiote
9) kiseli kupus konzumiran tijekom deset dana u količini od 250g dnevno kod aktivnih športaša izaziva probavne nuspojave, pogotovo u prvom tjednu unosa
10) kiseli kupus konzumiran tijekom deset dana u količini od 250g dnevno kod aktivnih športaša izaziva značajne promjene u diferencijalnoj krvnoj slici i koncentraciji vitamina B12

7.POPIS LITERATURE

Aghaee, M., Khosravi, N., Hanachi, P., Kordi, M. R., Aghaee, R., (2014): Effect of probiotic supplement on immune response in male athletes: a randomized clinical trail. *Qom University of Medical Sciences Journal* **7**(6), Pe27–Pe33, En5.

Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., Hernández-Mendoza, A., (2018): Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science, Technology* **75**, 105–114.

Ahmadi, S., Mekari, S., (2024): Executive functions in male and female older adults with aligned levels of VO_2max. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. doi: 10.23736/S0022-4707.24.15618-6.

Akazawa, N., Nakamura, M., Eda, N., Murakami, H., Nakagata, T., Nanri, H., Park, J., Hosomi, K., Mizuguchi, K., Kunisawa, J., Miyachi, M., Hoshikawa, M., (2023): Gut microbiota alternation with training periodization and physical fitness in Japanese elite athletes. *Frontiers in sports and active living* **5**, 1219345.

Alghamdi, W., Mosli, M., Alqahtani, S. A., (2024): Gut microbiota in MAFLD: therapeutic and diagnostic implications. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism* **15**, 20420188241242936.

Allen, J. M., Mailing, L. J., Niemiro, G. M., Moore, R., Cook, M. D., White, B. A., Holscher, H. D., Woods, J. A., (2018): Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Medicine and science in sports and exercise* **50**(4), 747–757.

Altay, F., Karbancıoglu-Güler, F., Daskaya-Dikmen, C., Heperkan, D., (2013): A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: microbiota, fermentation process and quality characteristics. *International journal of food microbiology* **167**(1), 44–56.

Alves, E., Gregório, J., Baby, A. R., Rijo, P., Rodrigues, L. M., Rosado, C., (2021): Homemade Kefir Consumption Improves Skin Condition-A Study Conducted in Healthy and Atopic Volunteers. *Foods* **10**(11) 2794

Amato, K. R., Chaves, Ó. M., Mallott, E. K., Eppley, T. M., Abreu, F., Baden, A. L., Barnett, A. A., Bicca-Marques, J. C., Boyle, S. A., Campbell, C. J., Chapman, C. A., De la Fuente, M. F., Fan, P., Fashing, P. J., Felton, A., Fruth, B., Fortes, V. B., Grueter, C. C., Hohmann, G., Irwin, M., Matthews, J. K., Mekonnen, A., Melin, A. D., Morgan, D. B., Ostner, J., Nguyen, N., Piel, A. K., Pinacho-Guendulain, B., Quintino-Arêdes, E. P., Razanaparany, P. T., Schiel, N., Sanz, C. M., Schülke, O., Shanee, S., Souto, A., Souza-Alves, J. P.,

Stewart, F., Stewart, K. M., Stone, A., Sun, B., Tecot, S., Valenta, K., Vogel, E. R., Wich, S., Zeng, Y., (2021): Fermented food consumption in wild nonhuman primates and its ecological drivers. American Journal of Physical Anthropology **175**(3), 513–530.

An, N., Wang, C., Dou, X., Liu, X., Wu, J., Cheng, Y., (2022): Comparison of 16S rDNA Amplicon Sequencing With the Culture Method for Diagnosing Causative Pathogens in Bacterial Corneal Infections. *Translational vision science, technology* **11**(2), 29.

An, S.-Y., Lee, M. S., Jeon, J. Y., Ha, E. S., Kim, T. H., Yoon, J. Y., Ok, C.-O., Lee, H.-K., Hwang, W.-S., Choe, S. J., Han, S. J., Kim, H. J., Kim, D. J., Lee, K.-W., (2013): Beneficial effects of fresh and fermented kimchi in prediabetic individuals. *Annals of nutrition, metabolism* **63**(1–2), 111–119.

Anderson, R. C., Cookson, A. L., McNabb, W. C., Park, Z., McCann, M. J., Kelly, W. J., Roy, N. C., (2010): Lactobacillus plantarum MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. *BMC microbiology* **10**, 316.

Annunziata, G., Arnone, A., Ciampaglia, R., Tenore, G. C., Novellino, E., (2020): Fermentation of Foods and Beverages as a Tool for Increasing Availability of Bioactive Compounds. Focus on Short-Chain Fatty Acids. *Foods* **9**(8).

Anukam, K., Reid, G., (2007): Probiotics: 100 years (1907-2007) after Elie Metchnikoff's Observation. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology.* **2**, 466-474

Arendt, J. F. B., Pedersen, L., Nexo, E., Sørensen, H. T., (2013): Elevated Plasma Vitamin B12 Levels as a Marker for Cancer: A Population-Based Cohort Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* **105**(23), 1799–1805.

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., Fernandes, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.-M., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., Leclerc, M., Levenez, F., Manichanh, C., Nielsen, H. B., Nielsen, T., Pons, N., Poulain, J., Qin, J., Sicheritz-Ponten, T., Tims, S., Torrents, D., Ugarte, E., Zoetendal, E. G., Wang, J., Guarner, F., Pedersen, O., de Vos, W. M., Brunak, S., Doré, J., Antolín, M., Artiguenave, F., Blottiere, H. M., Almeida, M., Brechot, C., Cara, C., Chervaux, C., Cultrone, A., Delorme, C., Denariaz, G., Dervyn, R., Foerstner, K. U., Friss, C., van de

Guchte, M., Guedon, E., Haimet, F., Huber, W., van Hylckama-Vlieg, J., Jamet, A., Juste, C., Kaci, G., Knol, J., Kristiansen, K., Lakhdari, O., Layec, S., Le Roux, K., Maguin, E., Mérieux, A., Melo Minardi, R., M'rini, C., Muller, J., Oozeer, R., Parkhill, J., Renault, P., Rescigno, M., Sanchez, N., Sunagawa, S., Torrejon, A., Turner, K., Vandemeulebrouck, G., Varela, E., Winogradsky, Y., Zeller, G., Weissenbach, J., Ehrlich, S. D., Bork, P., members), M. C. (additional, (2011): Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* **473**(7346), 174–180.

Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G., Yamasaki, S., Saito, T., Ohba, Y., Taniguchi, T., Takeda, K., Hori, S., Ivanov, I. I., Umesaki, Y., Itoh, K., Honda, K., (2011): Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science* **331**(6015), 337–341.

Aura, A.-M., (2008): Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochemistry Reviews* **7**(3), 407–429.

Aya, V., Flórez, A., Perez, L., Ramírez, J. D., (2021): Association between physical activity and changes in intestinal microbiota composition: A systematic review. *PloS One* **16**(2), e0247039.

Ayakdaş, G., Ağagündüz, D., (2023): Microbiota-accessible carbohydrates (MACs) as novel gut microbiome modulators in noncommunicable diseases. *Heliyon* **9**(9), e19888.

Azad, M. A. K., Sarker, M., Wan, D., (2018): Immunomodulatory Effects of Probiotics on Cytokine Profiles. *BioMed research international*, 8063647.

Bailey, C. P., Hennessy, E., (2020): A review of the ketogenic diet for endurance athletes: performance enhancer or placebo effect? *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **17**(1), 33.

Bailey, R. L., (2021): Overview of dietary assessment methods for measuring intakes of foods, beverages, and dietary supplements in research studies. *Current opinion in biotechnology* **70**, 91–96.

Bakdash, J. Z., & Marusich, L. R. (2017). Repeated Measures Correlation. *Frontiers in psychology*, **8**, 456. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00456

Barnard, N. D., Goldman, D. M., Loomis, J. F., Kahleova, H., Levin, S. M., Neabore, S., Batts,

T. C., (2019): Plant-Based Diets for Cardiovascular Safety and Performance in Endurance Sports. *Nutrients* **11**(1).

Barton, W., Penney, N. C., Cronin, O., Garcia-Perez, I., Molloy, M. G., Holmes, E., Shanahan, F., Cotter, P. D., O'Sullivan, O., (2018): The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level. *Gut* **67**(4), 625–633.

Bartoš, O., Chmel, M., Swierczková, I., (2024): The overlooked evolutionary dynamics of 16S rRNA revises its role as the 'gold standard' for bacterial species identification. *Scientific reports* **14**(1), 9067.

Baschali, A., Tsakalidou, E., Kyriacou, A., Karavasiloglou, N., Matalas, A.-L., (2017): Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group. *Nutrition research reviews* **30**(1), 1–24.

Beam, A., Clinger, E., Hao, L., (2021): Effect of Diet and Dietary Components on the Composition of the Gut Microbiota. *Nutrients* **13**(8).

Beermann, C., Hartung, J., (2013): Physiological properties of milk ingredients released by fermentation. *Food & function* **4** (2), 185–199.

Beganović, J., Kos, B., Leboš Pavunc, A., Uroić, K., Jokić, M., Šušković, J., (2014): Traditionally produced sauerkraut as source of autochthonous functional starter cultures. *Microbiological Research* **169**(7–8), 623–632.

Bell, V., Ferrão, J., Pimentel, L., Pintado, M., Fernandes, T., (2018): One Health, Fermented Foods, and Gut Microbiota. *Foods* **7**(12).

Bellikci-Koyu, E., Sarer-Yurekli, B. P., Akyon, Y., Aydin-Kose, F., Karagozlu, C., Ozgen, A. G., Brinkmann, A., Nitsche, A., Ergunay, K., Yilmaz, E., Buyuktuncer, Z., (2019): Effects of regular kefir consumption on gut microbiota in patients with metabolic syndrome: A parallel-group, randomized, controlled study. *Nutrients* **11**(9).

Benjamini, Y., Hochberg, Y., (1995): Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B* (Methodological) **57**(1), 289–300.

Biddle, A., Stewart, L., Blanchard, J., Leschine, S., (2013): Untangling the Genetic Basis of Fibrolytic Specialization by Lachnospiraceae and Ruminococcaceae in Diverse Gut

Communities. *Diversity* **5**(3), 627–640.

Bilski, J., Brzozowski, B., Mazur-Bialy, A., Sliwowski, Z., Brzozowski, T., (2014): The role of physical exercise in inflammatory bowel disease. *BioMed research international* **10**(12), 429031.

Bindels, L. B., Delzenne, N. M., (2013): Muscle wasting: the gut microbiota as a new therapeutic target? *The international journal of biochemistry, cell biology* **45**(10), 2186–2190.

Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J.-D., Serino, M., Tilg, H., Watson, A., Wells, J. M., (2014): Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy. *BMC gastroenterology* **14**, 189.

Blachier, F., Beaumont, M., Portune, K. J., Steuer, N., Lan, A., Audebert, M., Khodorova, N., Andriamihaja, M., Airinei, G., Benamouzig, R., Davila, A.-M., Armand, L., Rampelli, S., Brigidi, P., Tomé, D., Claus, S. P., Sanz, Y., (2019): High-protein diets for weight management: Interactions with the intestinal microbiota and consequences for gut health. A position paper by the my new gut study group. *Clinical nutrition* **38**(3), 1012–1022.

Boisseau, N., Barnich, N., Koechlin-Ramonatxo, C., (2022): The Nutrition-Microbiota-Physical Activity Triad: An Inspiring New Concept for Health and Sports Performance. *Nutrients* **14**(5).

Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodríguez, A. M., Chase, J., Cope, E. K., Da Silva, R., Diener, C., Dorrestein, P. C., Douglas, G. M., Durall, D. M., Duvallet, C., Edwardson, C. F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J. M., Gibbons, S. M., Gibson, D. L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G. A., Janssen, S., Jarmusch, A. K., Jiang, L., Kaehler, B. D., Kang, K. Bin, Keefe, C. R., Keim, P., Kelley, S. T., Knights, D., Koester, I., Kosciolek, T., Kreps, J., Langille, M. G. I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y.-X., Loftfield, E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B. D., McDonald, D., McIver, L. J., Melnik, A. V, Metcalf, J. L., Morgan, S. C., Morton, J. T., Naimey, A. T., Navas-Molina, J. A., Nothias, L. F., Orchanian, S. B., Pearson, T., Peoples, S. L., Petras, D., Preuss, M. L., Pruesse, E., Rasmussen, L. B., Rivers, A., Robeson, M. S., Rosenthal, P.,

Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A., Sinha, R., Song, S. J., Spear, J. R., Swafford, A. D., Thompson, L. R., Torres, P. J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P. J., Ul-Hasan, S., van der Hooft, J. J. J., Vargas, F., Vázquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., von Hippel, M., Walters, W., Wan, Y., Wang, M., Warren, J., Weber, K. C., Williamson, C. H. D., Willis, A. D., Xu, Z. Z., Zaneveld, J. R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight, R., Caporaso, J. G., (2019): Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* **37**(8), 852–857.

Bonder, M. J., Tigchelaar, E. F., Cai, X., Trynka, G., Cenit, M. C., Hrdlickova, B., Zhong, H., Vatanen, T., Gevers, D., Wijmenga, C., Wang, Y., Zhernakova, A., (2016): The influence of a short-term gluten-free diet on the human gut microbiome. *Genome medicine* **8**(1), 45.

Bottcher, M. R., Marincic, P. Z., Nahay, K. L., Baerlocher, B. E., Willis, A. W., Park, J., Gaillard, P., Greene, M. W., (2017): Nutrition knowledge and Mediterranean diet adherence in the southeast United States: Validation of a field-based survey instrument. *Appetite* **111**, 166–176.

Boyle, R. J., Robins-Browne, R. M., Tang, M. L. K., (2006): Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *The American journal of clinical nutrition* **83**(6), 1256–1257.

Boylston, T., Vinderola, C., Ghoddusi, H., Reinheimer, J., (2004): Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. *International Dairy Journal* **14**, 375–387.

Brennan, C., Axelrod, C., Paul, D., Hull, M., Kirwan, J., (2018): Effects Of A Novel Probiotic On Exercise-Induced Gut Permeability and Microbiota in Endurance Athletes. *Medicine, Science in Sports, Exercise* **50**, 840.

Bressa, C., Bailén-Andrino, M., Pérez-Santiago, J., González-Soltero, R., Pérez, M., Montalvo-Lominchar, M. G., Maté-Muñoz, J. L., Domínguez, R., Moreno, D., Larrosa, M., (2017): Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women. *PloS One* **12**(2), e0171352.

Brüls, T., Weissenbach, J., (2011): The human metagenome: our other genome? *Human Molecular Genetics* **20**(R2), R142–R148.

Burger-van Paassen, N., Vincent, A., Puiman, P. J., van der Sluis, M., Bouma, J., Boehm, G., van Goudoever, J. B., van Seuningen, I., Renes, I. B., (2009): The regulation of intestinal mucin MUC2 expression by short-chain fatty acids: implications for epithelial protection.

The Biochemical journal **420**(2), 211–219.

Busgang, S. A., Malin, A. J., Gennings, C., (2022): My nutrition index: a method for measuring optimal daily nutrient intake. *BMC nutrition* **8**(1), 16.

Bycura, D., Santos, A. C., Shiffer, A., Kyman, S., Winfree, K., Sutliffe, J., Pearson, T., Sonderegger, D., Cope, E., Caporaso, J. G., (2021): Impact of Different Exercise Modalities on the Human Gut Microbiome. *Sports* **9**(2).

Byerley, L. O., Gallivan, K. M., Christopher, C. J., Taylor, C. M., Luo, M., Dowd, S. E., Davis, G. M., Castro, H. F., Campagna, S. R., Ondrak, K. S., (2022): Gut Microbiome and Metabolome Variations in Self-Identified Muscle Builders Who Report Using Protein Supplements. *Nutrients* **14**(3).

Çabuk, B., Nosworthy, M. G., Stone, A. K., Korber, D. R., Tanaka, T., House, J. D., Nickerson, M. T., (2018): Effect of Fermentation on the Protein Digestibility and Levels of Non-Nutritive Compounds of Pea Protein Concentrate. *Food technology and biotechnology* **56**(2), 257–264.

Cade, J. E., (2017): Measuring diet in the 21st century: use of new technologies. *The Proceedings of the Nutrition Society* **76**(3), 276–282.

Caesar, R., Tremaroli, V., Kovatcheva-Datchary, P., Cani, P. D., Bäckhed, F., (2015): Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling. *Cell metabolism* **22**(4), 658–668.

Caffrey, E. B., Sonnenburg, J. L., Devkota, S., (2024): Our extended microbiome: The human-relevant metabolites and biology of fermented foods. *Cell Metabolism* **36**(4), 684–701.

Di Cagno, R., Filannino, P., Gobbetti, M., (2016): Fermented Foods: Fermented Vegetables and Other Products. In: Caballero, B., Finglas, P. M., Toldrá, F. (eds.), Encyclopedia of Food and Health. *Academic Press Oxford*. p. 668–674.

Camilleri, M., (2019): Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans. *Gut* **68**(8), 1516–1526.

Campaniello, D., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Speranza, B., Racioppo, A., Altieri, C., Bevilacqua, A., (2022): How Diet and Physical Activity Modulate Gut Microbiota: Evidence, and Perspectives. *Nutrients* **14**(12).

Campbell, S. C., Wisniewski, P. J., (2017): Exercise is a Novel Promoter of Intestinal Health and Microbial Diversity. *Exercise and sport science reviews* **(43)**,41–47.

Cancello, R., Turroni, S., Rampelli, S., Cattaldo, S., Candela, M., Cattani, L., Mai, S., Vietti, R., Scacchi, M., Brigidi, P., Invitti, C., (2019): Effect of Short-Term Dietary Intervention and Probiotic Mix Supplementation on the Gut Microbiota of Elderly Obese Women. *Nutrients* **11**(12).

Canfora, E. E., Jocken, J. W., Blaak, E. E., (2015): Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature reviews. Endocrinology* **11**(10), 577–591.

Capling, L., Gifford, J. A., Beck, K. L., Flood, V. M., Slater, G. J., Denyer, G. S., O'Connor, H. T., (2019): Development of an Athlete Diet Index for Rapid Dietary Assessment of Athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* **29**(6), 643–650.

Capling, L., Gifford, J. A., Beck, K. L., Flood, V. M., Halar, F., Slater, G. J., O'Connor, H. T., (2021): Relative validity and reliability of a novel diet quality assessment tool for athletes: the Athlete Diet Index. *The British journal of nutrition* **126**(2), 307–319.

Carbuhn, A. F., Reynolds, S. M., Campbell, C. W., Bradford, L. A., Deckert, J. A., Kreutzer, A., Fry, A. C., (2018): Effects of Probiotic (Bifidobacterium longum 35624) Supplementation on Exercise Performance, Immune Modulation, and Cognitive Outlook in Division I Female Swimmers. *Sports* **6**(4).

Cardona, F., Andrés-Lacueva, C., Tulipani, S., Tinahones, F. J., Queipo-Ortuño, M. I., (2013): Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. *The Journal of nutritional biochemistry* **24**(8), 1415–1422.

Carruba, M. O., Ragni, M., Ruocco, C., Aliverti, S., Silano, M., Amico, A., Vaccaro, C. M., Marangoni, F., Valerio, A., Poli, A., Nisoli, E., (2023): Role of Portion Size in the Context of a Healthy, Balanced Diet: A Case Study of European Countries. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **20**(6).

Caspi, R., Billington, R., Keseler, I. M., Kothari, A., Krummenacker, M., Midford, P. E., Ong, W. K., Paley, S., Subhraveti, P., Karp, P. D., (2020): The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes - a 2019 update. *Nucleic acids research* **48**(D1), D445–D453.

de Castilho, N. P. A., Nero, L. A., Todorov, S. D., (2019): Molecular screening of beneficial

and safety determinants from bacteriocinogenic lactic acid bacteria isolated from Brazilian artisanal calabresa. *Letters in Applied Microbiology* **69**(3), 204–211.

Cerdá, B., Pérez, M., Pérez-Santiago, J. D., Tornero-Aguilera, J. F., González-Soltero, R., Larrosa, M., (2016): Gut Microbiota Modification: Another Piece in the Puzzle of the Benefits of Physical Exercise in Health? *Frontiers in physiology* **7**, 51.

Chai, K. F., Ng, K. R., Samarasiri, M., Chen, W. N., (2022): Precision fermentation to advance fungal food fermentations. *Current Opinion in Food Science* **47**, 100881.

Chakroun, A., Baccouche, H., Mahjoub, S., Ben Romdhane, N., (2021): Assessment of Peripheral Blood Lymphocytosis in Adults: Determination of Thresholds for Differential Diagnosis between Clonal and Reactive Lymphocytosis. *Medical Laboratory Journal* **15**(6).

Chamorro-Viña, C., Fernandez-del-Valle, M., Tacón, A. M., (2013): Excessive Exercise and Immunity: The J-Shaped Curve. *The Active Female: Health Issues Throughout the Lifespan* 357–372.

Chan, A.-W., Tetzlaff, J. M., Altman, D. G., Laupacis, A., Gøtzsche, P. C., Krleža-Jerić, K., Hróbjartsson, A., Mann, H., Dickersin, K., Berlin, J. A., Doré, C. J., Parulekar, W. R., Summerskill, W. S. M., Groves, T., Schulz, K. F., Sox, H. C., Rockhold, F. W., Rennie, D., Moher, D., (2013): SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials. *Annals of Internal Medicine* **158**(3), 200–207.

Chandrasekaran, P., Weiskirchen, S., Weiskirchen, R., (2024): Effects of Probiotics on Gut Microbiota: An Overview. *International Journal of Molecular Sciences* **25**(11).

Chen, M., Sun, Q., Giovannucci, E., Mozaffarian, D., Manson, J. E., Willett, W. C., Hu, F. B., (2014): Dairy consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. *BMC medicine* **12**, 215.

Chen, V. L., Kasper, D. L., (2014): Interactions between the intestinal microbiota and innate lymphoid cells. *Gut microbes* **5**(1), 129–140.

Cheng, I.-C., Shang, H.-F., Lin, T.-F., Wang, T.-H., Lin, H.-S., Lin, S.-H., (2005): Effect of fermented soy milk on the intestinal bacterial ecosystem. *World journal of gastroenterology* **11**(8), 1225–1227.

Chilton, S. N., Burton, J. P., Reid, G., (2015): Inclusion of fermented foods in food guides

around the world. *Nutrients* **7**(1), 390–404.

Choi, I. H., Noh, J. S., Han, J.-S., Kim, H. J., Han, E.-S., Song, Y. O., (2013): Kimchi, a fermented vegetable, improves serum lipid profiles in healthy young adults: randomized clinical trial. *Journal of medicinal food* **16**(3), 223–229.

Choi, J. J., Eum, S. Y., Rampersaud, E., Daunert, S., Abreu, M. T., Toborek, M., (2013): Exercise attenuates PCB-induced changes in the mouse gut microbiome. *Environmental health perspectives* **121**(6), 725–730.

Churchward-Venne, T. A., Pinckaers, P. J. M., Smeets, J. S. J., Betz, M. W., Senden, J. M., Goessens, J. P. B., Gijsen, A. P., Rollo, I., Verdijk, L. B., van Loon, L. J. C., (2020): Dose-response effects of dietary protein on muscle protein synthesis during recovery from endurance exercise in young men: a double-blind randomized trial. *The American journal of clinical nutrition* **112**(2), 303–317.

Clancy, R. L., Gleeson, M., Cox, A., Callister, R., Dorrington, M., D'Este, C., Pang, G., Pyne, D., Fricker, P., Henriksson, A., (2006): Reversal in fatigued athletes of a defect in interferon gamma secretion after administration of Lactobacillus acidophilus. *British journal of sports medicine* **40**(4), 351–354.

Clark, A., Mach, N., (2016): Exercise-induced stress behavior, gut-microbiota-brain axis and diet: a systematic review for athletes. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **13**, 43.

Clark, A., Mach, N., (2017): The Crosstalk between the Gut Microbiota and Mitochondria during Exercise. *Frontiers in physiology* **8**, 319.

Clarke, S. F., Murphy, E. F., O'Sullivan, O., Lucey, A. J., Humphreys, M., Hogan, A., Hayes, P., O'Reilly, M., Jeffery, I. B., Wood-Martin, R., Kerins, D. M., Quigley, E., Ross, R. P., O'Toole, P. W., Molloy, M. G., Falvey, E., Shanahan, F., Cotter, P. D., (2014): Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut* **63**(12), 1913–1920.

Clarkson, P. M., (1995): Micronutrients and exercise: anti-oxidants and minerals. *Journal of sports sciences* **13** Spec No, S11-24.

Clauss, M., Gérard, P., Mosca, A., Leclerc, M., (2021): Interplay Between Exercise and Gut Microbiome in the Context of Human Health and Performance. *Frontiers in Nutrition* **8** (June).

Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., Knight, R., (2012): The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* **148**(6), 1258–1270.

Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M., Vernoux, J. P., (2003): Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. *Lait* **83**(4), 269–306.

Cook, M. D., Martin, S. A., Williams, C., Whitlock, K., Wallig, M. A., Pence, B. D., Woods, J. A., (2013): Forced treadmill exercise training exacerbates inflammation and causes mortality while voluntary wheel training is protective in a mouse model of colitis. *Brain, behavior, and immunity* **33**, 46–56.

Coqueiro, A. Y., de Oliveira Garcia, A. B., Rogero, M. M., Tirapegui, J., (2017): Probiotic supplementation in sports and physical exercise: Does it present any ergogenic effect? *Nutrition and health* **23**(4), 239–249.

Costa, M. S., Toscano, L. T., Toscano, L. de L. T., Luna, V. R., Torres, R. A., Silva, J. A., Silva, A. S., (2022): Ergogenic potential of foods for performance and recovery: a new alternative in sports supplementation? A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **62**(6), 1480–1501.

Costantini, L., Molinari, R., Farinon, B., Merendino, N., (2017): Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota. *International journal of molecular sciences* **18**(12).

Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloumme-Labarthe, L., Fall, A., Daube, G., Coton, E., (2017): Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *FEMS microbiology ecology* **93**(5).

Cotter, P., Beresford, T., (2017): Microbiome Changes During Ripening. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Fourth Edition. p. 389–409.

Cox, A. J., Pyne, D. B., Saunders, P. U., Fricker, P. A., (2010): Oral administration of the probiotic Lactobacillus fermentum VRI-003 and mucosal immunity in endurance athletes. *British journal of sports medicine* **44**(4), 222–226.

Cronin, O., O'Sullivan, O., Barton, W., Cotter, P. D., Molloy, M. G., Shanahan, F., (2017): Gut microbiota: implications for sports and exercise medicine. *British journal of sports medicine* **51**(9), 700–701.

Cunningham, M., Azcarate-Peril, M. A., Barnard, A., Benoit, V., Grimaldi, R., Guyonnet, D., Holscher, H. D., Hunter, K., Manurung, S., Obis, D., Petrova, M. I., Steinert, R. E., Swanson, K. S., van Sinderen, D., Vulevic, J., Gibson, G. R., (2021): Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology* **29**(8), 667–685.

D'Angelo, S., (2020): Polyphenols: Potential Beneficial Effects of These Phytochemicals in Athletes. *Current sports medicine reports* **19**(7), 260–265.

Dalton, A., Mermier, C., Zuhl, M., (2019): Exercise influence on the microbiome-gut-brain axis. *Gut microbes* **10**(5), 555–568.

Darzi, J., Frost, G. S., Montaser, R., Yap, J., Robertson, M. D., (2014): Influence of the tolerability of vinegar as an oral source of short-chain fatty acids on appetite control and food intake. *International journal of obesity* (2005) **38**(5), 675–681.

Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., Berenjian, A., Ghasemi, Y., (2019): Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods* **8**(3).

David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V, Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., Turnbaugh, P. J., (2014): Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* **505**(7484), 559–563.

Davila, A.-M., Blachier, F., Gotteland, M., Andriamihaja, M., Benetti, P.-H., Sanz, Y., Tomé, D., (2013): Intestinal luminal nitrogen metabolism: role of the gut microbiota and consequences for the host. *Pharmacological research* **68**(1), 95–107.

Diether, N. E., Willing, B. P., (2019): Microbial Fermentation of Dietary Protein: An Important Factor in Diet−Microbe−Host Interaction. *Microorganisms* **7**(1).

Dimidi, E., Cox, S. R., Rossi, M., Whelan, K., (2019): Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients* **11**(8).

Di Dio, M., Calella, P., Pelullo, C. P., Liguori, F., Di Onofrio, V., Gallè, F., Liguori, G., (2023): Effects of Probiotic Supplementation on Sports Performance and Performance-Related Features in Athletes: A Systematic Review. *International journal of environmental research and public health* **20**(3).

Dolan, K. T., Chang, E. B., (2017): Diet, gut microbes, and the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Molecular nutrition, food research* **61**(1).

Donati Zeppa, S., Agostini, D., Gervasi, M., Annibalini, G., Amatori, S., Ferrini, F., Sisti, D., Piccoli, G., Barbieri, E., Sestili, P., Stocchi, V., (2019): Mutual Interactions among Exercise, Sport Supplements and Microbiota. *Nutrients* **12**(1).

Dong, W., Wang, Y., Liao, S., Tang, W., Peng, L., Song, G., (2021): Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 Improves the State Anxiety and Sports Performance of Young Divers Under Stress Situations: A Single-Arm, Prospective Proof-of-Concept Study. *Frontiers in Psychology* **11**.

Dore, M. P., Bibbò, S., Fresi, G., Bassotti, G., Pes, G. M., (2019): Side Effects Associated with Probiotic Use in Adult Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients* **11**(12).

Dorelli, B., Gallè, F., De Vito, C., Duranti, G., Iachini, M., Zaccarin, M., Preziosi Standoli, J., Ceci, R., Romano, F., Liguori, G., Romano Spica, V., Sabatini, S., Valeriani, F., Cattaruzza, M. S., (2021): Can physical activity influence human gut microbiota composition independently of diet? A systematic review. *Nutrients* **13**(6), 1–14.

Douglas, G. M., Maffei, V. J., Zaneveld, J. R., Yurgel, S. N., Brown, J. R., Taylor, C. M., Huttenhower, C., Langille, M. G. I., (2020): PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nature biotechnology* **38**(6), 685–688.

Dr. Shatakshi, Dipanshu Kumar, Saloni Arora, Murugalatha. N., (2024): Examining The Relationship Between Gut Microbiota And Sports Performance: A Narrative Review. *Journal of Advanced Zoology* **45**(1 SE-Articles), 450–455.

Duncan, S. H., Louis, P., Flint, H. J., (2004): Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. *Applied and environmental microbiology* **70**(10), 5810–5817.

Durk, R. P., Castillo, E., Márquez-Magaña, L., Grosicki, G. J., Bolter, N. D., Matthew Lee, C., Bagley, J. R., (2019): Gut microbiota composition is related to cardiorespiratory fitness in healthy young adults. International Journal of Sport Nutrition and Exercise *Metabolism* **29**(3), 249–253.

Van Dyke, N., Murphy, M., Drinkwater, E. J., (2024): ‘We know what we should be eating, but

we don’t always do that.’ How and why people eat the way they do: a qualitative study with rural australians. *BMC public health* **24**(1), 1240.

Eisenstein, M., (2016): Microbiome: Bacterial broadband. *Nature* **533**(7603), S104-6.

Éliás, A. J., Barna, V., Patoni, C., Demeter, D., Veres, D. S., (2023): Probiotic supplementation during antibiotic treatment is unjustified in maintaining the gut microbiome diversity : a systematic review and meta - analysis. *BMC Medicine* 1–18.

Elliot, T. A., Cree, M. G., Sanford, A. P., Wolfe, R. R., Tipton, K. D., (2006): Milk ingestion stimulates net muscle protein synthesis following resistance exercise. *Medicine and science in sports and exercise* **38**(4), 667–674.

Emkani, M., Oliete, B., Saurel, R., (2022): Effect of Lactic Acid Fermentation on Legume Protein Properties, a Review. *Fermentation* **8**(6).

Estaki, M., Pither, J., Baumeister, P., Little, J. P., Gill, S. K., Ghosh, S., Ahmadi-Vand, Z., Marsden, K. R., Gibson, D. L., (2016): Cardiorespiratory fitness as a predictor of intestinal microbial diversity and distinct metagenomic functions. *Microbiome* **4**(1), 42.

Eussen, S. J. P. M., van Dongen, M. C. J. M., Wijckmans, N., den Biggelaar, L., Oude Elferink, S. J. W. H., Singh-Povel, C. M., Schram, M. T., Sep, S. J. S., van der Kallen, C. J., Koster, A., Schaper, N., Henry, R. M. A., Stehouwer, C. D. A., Dagnelie, P. C., (2016): Consumption of dairy foods in relation to impaired glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus: the Maastricht Study. *The British journal of nutrition* **115**(8), 1453–1461.

Evans, C. C., LePard, K. J., Kwak, J. W., Stancukas, M. C., Laskowski, S., Dougherty, J., Moulton, L., Glawe, A., Wang, Y., Leone, V., Antonopoulos, D. A., Smith, D., Chang, E. B., Ciancio, M. J., (2014): Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. *PloS One* **9**(3), e92193.

Falony, G., Joossens, M., Vieira-Silva, S., Wang, J., Darzi, Y., Faust, K., Kurilshikov, A., Bonder, M. J., Valles-Colomer, M., Vandeputte, D., Tito, R. Y., Chaffron, S., Rymenans, L., Verspecht, C., De Sutter, L., Lima-Mendez, G., D’hoe, K., Jonckheere, K., Homola, D., Garcia, R., Tigchelaar, E. F., Eeckhaudt, L., Fu, J., Henckaerts, L., Zhernakova, A., Wijmenga, C., Raes, J., (2016): Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science* **352**(6285), 560–564.

Farquharson, J., Adams, J. F., (1976): The forms of vitamin B12 in foods. *British Journal of Nutrition* **36**(1), 127–136.

Fassarella, M., Blaak, E. E., Penders, J., Nauta, A., Smidt, H., Zoetendal, E. G., (2021): Gut microbiome stability and resilience: elucidating the response to perturbations in order to modulate gut health. *Gut* **70**(3), 595–605.

Fernández-Reina, A., Urdiales, J. L., Sánchez-Jiménez, F., (2018): What We Know and What We Need to Know about Aromatic and Cationic Biogenic Amines in the Gastrointestinal Tract. *Foods* **7**(9).

Fernández, M., Hudson, J. A., Korpela, R., de los Reyes-Gavilán, C. G., (2015): Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview. *BioMed research international* 2015, 412714.

Fijan, S., Fijan, P., Wei, L., Marco, M. L., (2024): Health Benefits of Kimchi, Sauerkraut, and Other Fermented Foods of the Genus Brassica. *Applied Microbiology* **4**(3), 1165–1176.

De Filippis, F., Pasolli, E., Ercolini, D., (2020): The food-gut axis: lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health. *FEMS microbiology reviews* **44**(4), 454–489.

De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., Lionetti, P., (2010): Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**(33), 14691–14696.

Firmesse, O., Alvaro, E., Mogenet, A., Bresson, J.-L., Lemée, R., Le Ruyet, P., Bonhomme, C., Lambert, D., Andrieux, C., Doré, J., Corthier, G., Furet, J.-P., Rigottier-Gois, L., (2008): Fate and effects of Camembert cheese micro-organisms in the human colonic microbiota of healthy volunteers after regular Camembert consumption. *International journal of food microbiology* **125**(2), 176–181.

Flachs, A., Orkin, J. D., (2021): On pickles: biological and sociocultural links between fermented foods and the human gut microbiome. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine* **17**(1), 39.

Flynn, M. G., McFarlin, B. K., (2006): Toll-like receptor 4: link to the anti-inflammatory effects of exercise? *Exercise and sport sciences reviews* **34**(4), 176–181.

Fontana, F., Longhi, G., Tarracchini, C., Mancabelli, L., Lugli, G. A., Alessandri, G., Turroni, F., Milani, C., Ventura, M., (2023): The human gut microbiome of athletes: metagenomic and metabolic insights. *Microbiome* **11**(1), 27.

Ford, A. C., Harris, L. A., Lacy, B. E., Quigley, E. M. M., Moayyedi, P., (2018): Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* **48**(10), 1044–1060.

Foster, E., Bradley, J., (2018): Methodological considerations and future insights for 24-hour dietary recall assessment in children. *Nutrition research* **51**, 1–11.

Frampton, J., Murphy, K. G., Frost, G., Chambers, E. S., (2020): Short-chain fatty acids as potential regulators of skeletal muscle metabolism and function. *Nature metabolism* **2**(9), 840–848.

Fritzen, A. M., Lundsgaard, A.-M., Kiens, B., (2019): Dietary Fuels in Athletic Performance. *Annual review of nutrition* **39**, 45–73.

Fu, P., Wang, C., Zheng, S., Qiao, L., Gao, W., Gong, L., (2024): Connection of pre-competition anxiety with gut microbiota and metabolites in wrestlers with varying sports performances based on brain-gut axis theory. *BMC microbiology* **24**(1), 147.

Gaboon, N. E. A., (2011): Nutritional genomics and personalized diet. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics* **12**(1), 1–7.

García-Conesa, M.-T., Philippou, E., Pafilas, C., Massaro, M., Quarta, S., Andrade, V., Jorge, R., Chervenkov, M., Ivanova, T., Dimitrova, D., Maksimova, V., Smilkov, K., Ackova, D. G., Miloseva, L., Ruskovska, T., Deligiannidou, G. E., Kontogiorgis, C. A., Pinto, P., (2020): Exploring the Validity of the 14-Item Mediterranean Diet Adherence Screener (MEDAS): A Cross-National Study in Seven European Countries around the Mediterranean Region. *Nutrients* **12**(10).

Garcia-Gutierrez, E., Mayer, M. J., Cotter, P. D., Narbad, A., (2019): Gut microbiota as a source of novel antimicrobials. *Gut microbes* **10**(1), 1–21.

Garden, L., Clark, H., Whybrow, S., Stubbs, R. J., (2018): Is misreporting of dietary intake by weighed food records or 24-hour recalls food specific? *European journal of clinical nutrition* **72**(7), 1026–1034.

Gastin, P. B., (2001): Energy system interaction and relative contribution during maximal exercise. *Sports medicine* **31**(10), 725–741.

Gaudioso, G., Weil, T., Marzorati, G., Solovyev, P., Bontempo, L., Franciosi, E., Bertoldi, L., Pedrolli, C., Tuohy, K. M., Fava, F., (2022): Microbial and metabolic characterization of organic artisanal sauerkraut fermentation and study of gut health-promoting properties of sauerkraut brine . *Frontiers in Microbiology* **13**.

Gervasi, T., Mandalari, G., (2023): The Interplay Between Gut Microbiota and Central Nervous System. *Current pharmaceutical design* **29**(41), 3274–3281.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., Reid, G., (2017): Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* **14**(8), 491–502.

Gil-Hernández, E., Ruiz-González, C., Rodriguez-Arrastia, M., Ropero-Padilla, C., Rueda-Ruzafa, L., Sánchez-Labraca, N., Roman, P., (2023): Effect of gut microbiota modulation on sleep: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Nutrition reviews* **81**(12), 1556–1570.

Gisolfi, C. V, (2000): Is the GI System Built For Exercise? *Physiology* **15**(3), 114–119.

Gleeson, M., Nieman, D. C., Pedersen, B. K., (2004): Exercise, nutrition and immune function. *Journal of sports sciences* **22**(1), 115–125.

Gleeson, M., Bishop, N. C., Oliveira, M., Tauler, P., 2011a: Daily probiotic's (Lactobacillus casei Shirota) reduction of infection incidence in athletes. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism* **21**(1), 55–64.

Gleeson, M., Bishop, N. C., Stensel, D. J., Lindley, M. R., Mastana, S. S., Nimmo, M. A., 2011b: The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. Nature reviews. *Immunology* **11**(9), 607–615.

Gómez-Llorente, C., Muñoz, S., Gil, A., (2010): Role of Toll-like receptors in the development of immunotolerance mediated by probiotics. *The Proceedings of the Nutrition Society* **69**(3), 381–389.

Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., (2010): Functional Foods

and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive reviews in food science and food safety* **9**(3), 292–302.

Gupta, S., Mortensen, M. S., Schjørring, S., Trivedi, U., Vestergaard, G., Stokholm, J., Bisgaard, H., Krogfelt, K. A., Sørensen, S. J., (2019): Amplicon sequencing provides more accurate microbiome information in healthy children compared to culturing. *Communications Biology* **2**(1), 291.

Gupta, V. K., Rajendraprasad, S., Ozkan, M., Ramachandran, D., Ahmad, S., Bakken, J. S., Laudanski, K., Gajic, O., Bauer, B., Zec, S., Freeman, D. W., Khanna, S., Shah, A., Skalski, J. H., Sung, J., Karnatovskaia, L. V, (2024): Safety, feasibility, and impact on the gut microbiome of kefir administration in critically ill adults. *BMC Medicine* **22**(1), 80.

Hadjimbei, E., Botsaris, G., Chrysostomou, S., (2022): Beneficial Effects of Yoghurts and Probiotic Fermented Milks and Their Functional Food Potential. *Foods* **11**(17).

Hadžić, E., Starcevic, A., Rupčić, T., Zucko, J., Čvrljak, T., Renko, I., Knjaz, D., Novak, D., (2023): Effects of Soluble Dietary Fibre on Exercise Performance and Perception of Fatigue in Young Basketball Players. *Food technology and biotechnology* **61**(3), 389–401.

Hajibabaei, M., Singer, G. A. C., Hebert, P. D. N., Hickey, D. A., (2007): DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in genetics : TIG* **23**(4), 167–172.

Han, K., Bose, S., Wang, J., Kim, B.-S., Kim, M. J., Kim, E.-J., Kim, H., (2015): Contrasting effects of fresh and fermented kimchi consumption on gut microbiota composition and gene expression related to metabolic syndrome in obese Korean women. *Molecular nutrition, food research* **59**(5), 1004–1008.

Hanna, B. S., Wang, G., Galván-Peña, S., Mann, A. O., Ramirez, R. N., Muñoz-Rojas, A. R., Smith, K., Wan, M., Benoist, C., Mathis, D., (2023): The gut microbiota promotes distal tissue regeneration via RORγ(+) regulatory T cell emissaries. *Immunity* **56**(4), 829-846.e8.

Harnett, J. E., Pyne, D. B., McKune, A. J., Penm, J., Pumpa, K. L., (2021): Probiotic supplementation elicits favourable changes in muscle soreness and sleep quality in rugby players. *Journal of science and medicine in sport* **24**(2), 195–199.

Havenaar, R., (2011): Intestinal health functions of colonic microbial metabolites: a review.

Beneficial Microbes **2**(2), 103–114.

Hawley, J. A., (2020): Microbiota and muscle highway - two way traffic. *Nature reviews. Endocrinology* **16**(2), 71–72.

He, Y., Li, Y., Song, Y., Hu, X., Liang, J., Shafik, K., Ni, D., Xu, W., (2022): Amplicon Sequencing Reveals Novel Fungal Species Responsible for a Controversial Tea Disease. *Journal of fungi* **8**(8).

Hebestreit, K., Yahiaoui-Doktor, M., Engel, C., Vetter, W., Siniatchkin, M., Erickson, N., Halle, M., Kiechle, M., Bischoff, S. C., (2017): Validation of the German version of the Mediterranean Diet Adherence Screener (MEDAS) questionnaire. *BMC cancer* **17**(1), 341.

Heidari, H., Lawrence, D. A., (2024): An integrative exploration of environmental stressors on the microbiome-gut-brain axis and immune mechanisms promoting neurological disorders. Journal of toxicology and environmental health. Part B, *Critical reviews* 1–31.

Hervert-Hernández, D., Pintado, C., Rotger, R., Goñi, I., (2009): Stimulatory role of grape pomace polyphenols on Lactobacillus acidophilus growth. *International journal of food microbiology* **136**(1), 119–122.

Hervert, D., Goñi, I., (2011): Dietary Polyphenols and Human Gut Microbiota: a Review. *Food Reviews International* **27,** 154–169.

Higashikawa, F., Noda, M., Awaya, T., Nomura, K., Oku, H., Sugiyama, M., (2010): Improvement of constipation and liver function by plant-derived lactic acid bacteria: a double-blind, randomized trial. *Nutrition* **26**(4), 367–374.

Hilimire, M. R., DeVylder, J. E., Forestell, C. A., (2015): Fermented foods, neuroticism, and social anxiety: An interaction model. *Psychiatry research* **228**(2), 203–208.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., Sanders, M. E., (2014): Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* **11**(8), 506–514.

Hintikka, J. E., Munukka, E., Valtonen, M., Luoto, R., Ihalainen, J. K., Kallonen, T., Waris, M., Heinonen, O. J., Ruuskanen, O., Pekkala, S., (2022): Gut Microbiota and Serum

Metabolome in Elite Cross-Country Skiers: A Controlled Study. *Metabolites* **12**(4).

Hiseni, P., Rudi, K., Wilson, R. C., Hegge, F. T., Snipen, L., (2021): HumGut: a comprehensive human gut prokaryotic genomes collection filtered by metagenome data. *Microbiome* **9**(1), 165.

Holscher, H. D., (2017): Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut microbes* **8**(2), 172–184.

Hong, K.-J., Lee, C.-H., Kim, S. W., (2004): Aspergillus oryzae GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *Journal of medicinal food* **7**(4), 430–435.

Hooks, K. B., O'Malley, M. A., (2020): Contrasting Strategies: Human Eukaryotic Versus Bacterial Microbiome Research. *Journal of Eukaryotic Microbiology* **67**(2), 279–295.

Hooper, L. V, Littman, D. R., Macpherson, A. J., (2012): Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* **336**(6086), 1268–1273.

Hu, Y., Zhang, L., Wen, R., Chen, Q., Kong, B., (2022): Role of lactic acid bacteria in flavor development in traditional Chinese fermented foods: A review. *Critical reviews in food science and nutrition* **62**(10), 2741–2755.

Huang, T.-T., Lai, J.-B., Du, Y.-L., Xu, Y., Ruan, L.-M., Hu, S.-H., 2019a: Current Understanding of Gut Microbiota in Mood Disorders: An Update of Human Studies. *Frontiers in genetics* **10**, 98.

Huang, W.-C., Hsu, Y.-J., Li, H., Kan, N.-W., Chen, Y.-M., Lin, J.-S., Hsu, T.-K., Tsai, T.-Y., Chiu, Y.-S., Huang, C.-C., (2018): Effect of Lactobacillus Plantarum TWK10 on Improving Endurance Performance in Humans. *The Chinese journal of physiology* **61**(3), 163–170.

Huang, W.-C., Pan, C.-H., Wei, C.-C., Huang, H.-Y., (2020): Lactobacillus plantarum PS128 Improves Physiological Adaptation and Performance in Triathletes through Gut Microbiota Modulation. *Nutrients* **12**(8).

Huang, W.-C., Wei, C.-C., Huang, C.-C., Chen, W.-L., Huang, H.-Y., 2019b: The Beneficial Effects of Lactobacillus plantarum PS128 on High-Intensity, Exercise-Induced Oxidative Stress, Inflammation, and Performance in Triathletes. *Nutrients* **11**(2).

Hughes, R. L., (2019): A Review of the Role of the Gut Microbiome in Personalized Sports Nutrition. *Frontiers in Nutrition* **6**, 191.

Hughes, R. L., Holscher, H. D., (2021): Fueling Gut Microbes: A Review of the Interaction between Diet, Exercise, and the Gut Microbiota in Athletes. *Advances in nutrition* **12**(6), 2190–2215.

Humińska-Lisowska, K., Zielińska, K., Mieszkowski, J., Michałowska-Sawczyn, M., Cięszczyk, P., Łabaj, P. P., Waśąg, B., Frączek, B., Grzywacz, A., Kochanowicz, A., Kosciolek, T., (2024): Microbiome features associated with performance measures in athletic and non-athletic individuals: A case-control study. *PloS One* **19**(2), e0297858.

van Hylckama Vlieg, J. E. T., Veiga, P., Zhang, C., Derrien, M., Zhao, L., (2011): Impact of microbial transformation of food on health - from fermented foods to fermentation in the gastro-intestinal tract. *Current opinion in biotechnology* **22**(2), 211–219.

Inoguchi, S., Ohashi, Y., Narai-Kanayama, A., Aso, K., Nakagaki, T., Fujisawa, T., (2012): Effects of non-fermented and fermented soybean milk intake on faecal microbiota and faecal metabolites in humans. *International journal of food sciences and nutrition* **63**(4), 402–410.

Ishihara, J., (2015): Challenges in Dietary Exposure Assessment in Epidemiology: Research Trends. Journal of nutritional science and vitaminology 61 Suppl, S33-5.

Islam, K. B. M. S., Fukiya, S., Hagio, M., Fujii, N., Ishizuka, S., Ooka, T., Ogura, Y., Hayashi, T., Yokota, A., (2011): Bile acid is a host factor that regulates the composition of the cecal microbiota in rats. *Gastroenterology* **141**(5), 1773–1781.

Islam, M. Z., Tran, M., Xu, T., Tierney, B. T., Patel, C., Kostic, A. D., (2022): Reproducible and opposing gut microbiome signatures distinguish autoimmune diseases and cancers: a systematic review and meta-analysis. *Microbiome* **10**(1), 218.

Islam, S. U., (2016): Clinical Uses of Probiotics. *Medicine* **95**(5), e2658.

Iwasa, M., Aoi, W., Mune, K., Yamauchi, H., Furuta, K., Sasaki, S., Takeda, K., Harada, K., Wada, S., Nakamura, Y., Sato, K., Higashi, A., (2013): Fermented milk improves glucose metabolism in exercise-induced muscle damage in young healthy men. *Nutrition journal* **12**, 83.

Jäger, R., Purpura, M., Stone, J. D., Turner, S. M., Anzalone, A. J., Eimerbrink, M. J., Pane,

M., Amoruso, A., Rowlands, D. S., Oliver, J. M., (2016): Probiotic Streptococcus thermophilus FP4 and Bifidobacterium breve BR03 Supplementation Attenuates Performance and Range-of-Motion Decrements Following Muscle Damaging Exercise. *Nutrients* **8**(10).

Jäger, R., Zaragoza, J., Purpura, M., Iametti, S., Marengo, M., Tinsley, G. M., Anzalone, A. J., Oliver, J. M., Fiore, W., Biffi, A., Urbina, S., Taylor, L., (2020): Probiotic Administration Increases Amino Acid Absorption from Plant Protein: a Placebo-Controlled, Randomized, Double-Blind, Multicenter, Crossover Study. *Probiotics and antimicrobial proteins* **12**(4), 1330–1339.

Jäger, R., Mohr, A. E., Carpenter, K. C., Kerksick, C. M., Purpura, M., Moussa, A., Townsend, J. R., Lamprecht, M., West, N. P., Black, K., Gleeson, M., Pyne, D. B., Wells, S. D., Arent, S. M., Smith-Ryan, A. E., Kreider, R. B., Campbell, B. I., Bannock, L., Scheiman, J., Wissent, C. J., Pane, M., Kalman, D. S., Pugh, J. N., Ter Haar, J. A., Antonio, J., (2019): International Society of Sports Nutrition Position Stand: Probiotics. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **16**(1), 62.

Jäger, R., Purpura, M., Farmer, S., Cash, H. A., Keller, D., (2018): Probiotic Bacillus coagulans GBI-30, 6086 Improves Protein Absorption and Utilization. *Probiotics and antimicrobial proteins* **10**(4), 611–615.

Janda, J. M., Abbott, S. L., (2007): 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of clinical microbiology* **45**(9), 2761–2764.

Jang, L.-G., Choi, G., Kim, S.-W., Kim, B.-Y., Lee, S., Park, H., 2019a: The combination of sport and sport-specific diet is associated with characteristics of gut microbiota: an observational study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **16(**1), 21.

Jardin, J., Mollé, D., Piot, M., Lortal, S., Gagnaire, V., (2012): Quantitative proteomic analysis of bacterial enzymes released in cheese during ripening. *International journal of food microbiology* **155**(1–2), 19–28.

Jenkins, T. A., Nguyen, J. C. D., Polglaze, K. E., Bertrand, P. P., (2016): Influence of Tryptophan and Serotonin on Mood and Cognition with a Possible Role of the Gut-Brain Axis. *Nutrients* **8**(1).

Jeukendrup, A., (2014): A step towards personalized sports nutrition: carbohydrate intake

during exercise. Sports medicine 44 Suppl 1(Suppl 1), S25-33.

Jeukendrup, A. E., (2004): Carbohydrate intake during exercise and performance. *Nutrition* **20**(7–8), 669–677.

Jeukendrup, A. E., Vet-Joop, K., Sturk, A., Stegen, J. H., Senden, J., Saris, W. H., Wagenmakers, A. J., (2000): Relationship between gastro-intestinal complaints and endotoxaemia, cytokine release and the acute-phase reaction during and after a long-distance triathlon in highly trained men. *Clinical science* **98**(1), 47–55.

Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B.-Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E., Weinstock, G. M., (2019): Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications* **10**(1), 5029.

Jones, R. M., Mercante, J. W., Neish, A. S., (2012): Reactive oxygen production induced by the gut microbiota: pharmacotherapeutic implications. *Current medicinal chemistry* **19**(10), 1519–1529.

Kang, S. S., Jeraldo, P. R., Kurti, A., Miller, M. E. B., Cook, M. D., Whitlock, K., Goldenfeld, N., Woods, J. A., White, B. A., Chia, N., Fryer, J. D., (2014): Diet and exercise orthogonally alter the gut microbiome and reveal independent associations with anxiety and cognition. *Molecular neurodegeneration* **9**, 36.

Karačić, A., Renko, I., Krznarić, Ž., Klobučar, S., Liberati Pršo, A.-M., (2024): The Association between the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio and Body Mass among European Population with the Highest Proportion of Adults with Obesity: An Observational Follow-Up Study from Croatia. *Biomedicines* **12**(10).

Kårlund, A., Gómez-Gallego, C., Turpeinen, A. M., Palo-Oja, O.-M., El-Nezami, H., Kolehmainen, M., (2019): Protein Supplements and Their Relation with Nutrition, Microbiota Composition and Health: Is More Protein Always Better for Sportspeople? *Nutrients* **11**(4).

Kårlund, A., Gómez-Gallego, C., Korhonen, J., Palo-oja, O.-M., El-Nezami, H., Kolehmainen, M., (2020): Harnessing Microbes for Sustainable Development: Food Fermentation as a Tool for Improving the Nutritional Quality of Alternative Protein Sources. *Nutrients* **12**(4).

Kasahara, K., Krautkramer, K. A., Org, E., Romano, K. A., Kerby, R. L., Vivas, E. I.,

Mehrabian, M., Denu, J. M., Bäckhed, F., Lusis, A. J., Rey, F. E., (2018): Interactions between Roseburia intestinalis and diet modulate atherogenesis in a murine model. *Nature microbiology* **3**(12), 1461–1471.

Kasperek, M. C., Mailing, L., Piccolo, B. D., Moody, B., Lan, R., Gao, X., Hernandez-Saavedra, D., Woods, J. A., Adams, S. H., Allen, J. M., (2023): Exercise training modifies xenometabolites in gut and circulation of lean and obese adults. *Physiological reports* **11**(6), e15638.

Keirns, B. H., Koemel, N. A., Sciarrillo, C. M., Anderson, K. L., Emerson, S. R., (2020): Exercise and intestinal permeability: another form of exercise-induced hormesis? American journal of physiology. *Gastrointestinal and liver physiology* **319**(4), G512–G518.

Kekkonen, R. A., Vasankari, T. J., Vuorimaa, T., Haahtela, T., Julkunen, I., Korpela, R., (2007): The effect of probiotics on respiratory infections and gastrointestinal symptoms during training in marathon runners. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism* **17**(4), 352–363.

Kho, Z. Y., Lal, S. K., (2018): The Human Gut Microbiome - A Potential Controller of Wellness and Disease. *Frontiers in Microbiology* **9**, 1835.

Kim, E., Ha, A., Choi, E., Ju, S., (2020): Analysis of Kimchi , vegetable and fruit consumption trends among Korean adults : data from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (1998-2012) **10**(2), 188–197.

Kim, H.-Y., Park, K.-Y., (2018): Clinical trials of kimchi intakes on the regulation of metabolic parameters and colon health in healthy Korean young adults. Journal of Functional *Foods* **47**, 325–333.

Kim, H. J., Noh, J. S., Song, Y. O., (2018): Beneficial Effects of Kimchi, a Korean Fermented Vegetable Food, on Pathophysiological Factors Related to Atherosclerosis. *Journal of medicinal food* **21**(2), 127–135.

Klaenhammer, T. R., Kleerebezem, M., Kopp, M. V., Rescigno, M., (2012): The impact of probiotics and prebiotics on the immune system. *Nature reviews. Immunology* **12**(10), 728–734.

Knights, D., Ward, T. L., McKinlay, C. E., Miller, H., Gonzalez, A., McDonald, D., Knight,

R., (2014): Rethinking ‘enterotypes’. *Cell host, microbe* **16**(4), 433–437.

Koerich, A. C. C., Borszcz, F. K., Thives Mello, A., de Lucas, R. D., Hansen, F., (2023): Effects of the ketogenic diet on performance and body composition in athletes and trained adults: a systematic review and Bayesian multivariate multilevel meta-analysis and meta-regression. *Critical reviews in food science and nutrition* **63**(32), 11399–11424.

Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Bäckhed, F., (2016): From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. *Cell* **165**(6), 1332–1345.

Komano, Y., Shimada, K., Naito, H., Fukao, K., Ishihara, Y., Fujii, T., Kokubo, T., Daida, H., (2018): Efficacy of heat-killed Lactococcus lactis JCM 5805 on immunity and fatigue during consecutive high intensity exercise in male athletes: a randomized, placebo-controlled, double-blinded trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **15**(1), 39.

Komano, Y., Fukao, K., Shimada, K., Naito, H., Ishihara, Y., Fujii, T., Kokubo, T., Daida, H., (2023): Effects of Ingesting Food Containing Heat-Killed Lactococcus lactis Strain Plasma on Fatigue and Immune-Related Indices after High Training Load: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, and Parallel-Group Study. *Nutrients* **15**(7).

Korcz, E., Kerényi, Z., Varga, L., (2018): Dietary fibers, prebiotics, and exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: potential health benefits with special regard to cholesterol-lowering effects. *Food, function* **9**(6), 3057–3068.

Korem, T., Zeevi, D., Zmora, N., Weissbrod, O., Bar, N., Lotan-Pompan, M., Avnit-Sagi, T., Kosower, N., Malka, G., Rein, M., Suez, J., Goldberg, B. Z., Weinberger, A., Levy, A. A., Elinav, E., Segal, E., (2017): Bread Affects Clinical Parameters and Induces Gut Microbiome-Associated Personal Glycemic Responses. *Cell metabolism* **25**(6), 1243-1253.e5.

Kulecka, M., Fraczek, B., Mikula, M., Zeber-Lubecka, N., Karczmarski, J., Paziewska, A., Ambrozkiewicz, F., Jagusztyn-Krynicka, K., Cieszczyk, P., Ostrowski, J., (2020): The composition and richness of the gut microbiota differentiate the top Polish endurance athletes from sedentary controls. *Gut microbes* **11**(5), 1374–1384.

Kumar, A., Wu, H., Collier-Hyams, L. S., Hansen, J. M., Li, T., Yamoah, K., Pan, Z.-Q., Jones,

D. P., Neish, A. S., (2007): Commensal bacteria modulate cullin-dependent signaling via generation of reactive oxygen species. *The EMBO journal* **26**(21), 4457–4466.

Kumari, P., Prakash, P., Yadav, S., Saran, V., (2022): Microbiome analysis: An emerging forensic investigative tool. *Forensic science international* **340**, 111462.

Laatikainen, R., Koskenpato, J., Hongisto, S.-M., Loponen, J., Poussa, T., Hillilä, M., Korpela, R., (2016): Randomised clinical trial: low-FODMAP rye bread vs. regular rye bread to relieve the symptoms of irritable bowel syndrome. *Alimentary pharmacology, therapeutics* **44**(5), 460–470.

Lamprecht, M., Frauwallner, A., (2012): Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. *Medicine and sport science* **59**, 47–56.

Lamprecht, M., Bogner, S., Schippinger, G., Steinbauer, K., Fankhauser, F., Hallstroem, S., Schuetz, B., Greilberger, J. F., (2012): Probiotic supplementation affects markers of intestinal barrier, oxidation, and inflammation in trained men; a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **9**(1), 45.

Lang, J. M., Pan, C., Cantor, R. M., Tang, W. H. W., Garcia-Garcia, J. C., Kurtz, I., Hazen, S. L., Bergeron, N., Krauss, R. M., Lusis, A. J., (2018): Impact of Individual Traits, Saturated Fat, and Protein Source on the Gut Microbiome. *MBio* **9**(6).

Lang, J. M., Eisen, J. A., Zivkovic, A. M., (2014): The microbes we eat: abundance and taxonomy of microbes consumed in a day's worth of meals for three diet types. *PeerJ* **2**, e659.

Lê, S., Josse, J., Husson, F., (2008): FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. Journal of Statistical Software **25**(1 SE-Articles), 1–18.

LeBlanc, J. G., Milani, C., de Giori, G. S., Sesma, F., van Sinderen, D., Ventura, M., (2013): Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current opinion in biotechnology* **24**(2), 160–168.

LeBlanc, J. G., Chain, F., Martín, R., Bermúdez-Humarán, L. G., Courau, S., Langella, P., (2017): Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial cell factories* **16**(1), 79.

Lee, C., Lee, J., Eor, J. Y., Kwak, M.-J., Huh, C. S., Kim, Y., (2023): Effect of Consumption of Animal Products on the Gut Microbiome Composition and Gut Health. *Food science of animal resources* **43**(5), 723–750.

Lee, E., Lee, J.-E., (2021): Impact of drinking alcohol on gut microbiota: recent perspectives on ethanol and alcoholic beverage. *Current Opinion in Food Science* **37**, 91–97.

Lee, H. C., Jenner, A. M., Low, C. S., Lee, Y. K., (2006): Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. *Research in microbiology* **157**(9), 876–884.

Lee, M.-C., Hsu, Y.-J., Chuang, H.-L., Hsieh, P.-S., Ho, H.-H., Chen, W.-L., Chiu, Y.-S., Huang, C.-C., (2019): In Vivo Ergogenic Properties of the Bifidobacterium longum OLP-01 Isolated from a Weightlifting Gold Medalist. *Nutrients* **11**(9).

Lee, M.-C., Hsu, Y.-J., Ho, H., Kuo, Y., Lin, W.-Y., Tsai, S.-Y., Chen, W.-L., Lin, C.-L., Huang, C.-C., (2021): Effectiveness of human-origin Lactobacillus plantarum PL-02 in improving muscle mass, exercise performance and anti-fatigue. *Scientific Reports* **11**(1), 19469.

Leeuwendaal, N. K., Stanton, C., O'Toole, P. W., Beresford, T. P., (2022): Fermented Foods, Health and the Gut Microbiome. *Nutrients* **14**(7).

Legrand, R., Lucas, N., Dominique, M., Azhar, S., Deroissart, • Camille, Le Solliec, M.-A., Rondeaux, J., Nobis, S., Guérin, C., Léon, F., Rego, J.-C. Do, Pons, N., Emmanuelle, •, Chatelier, L., Dusko Ehrlich, • S, Lambert, G., Déchelotte, P., Sergueï, •, Fetissov, O., (2020): Commensal Hafnia alvei strain reduces food intake and fat mass in obese mice-a new potential probiotic for appetite and body weight management. *International Journal of Obesity* **44**, 1041–1051.

Leroy, F., De Vuyst, L., (2014): Fermented food in the context of a healthy diet: how to produce novel functional foods? *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* **17**(6), 574–581.

Lessard-Lord, J., Roussel, C., Lupien-Meilleur, J., Généreux, P., Richard, V., Guay, V., Roy, D., Desjardins, Y., (2024): Short term supplementation with cranberry extract modulates gut microbiota in human and displays a bifidogenic effect. *Npj Biofilms and Microbiomes* **10**(1), 18.

Lewis, G., Reczek, S., Omozusi, O., Hogue, T., Cook, M. D., Hampton-Marcell, J., (2024): Machine Learning Reveals Microbial Taxa Associated with a Swim across the Pacific Ocean. *Biomedicines* **12**(10).

Li, Y., Yang, H., Yu, B., Wang, J., Zhu, M., Liu, J., Zheng, Z., Qian, Z., Wei, L., Lv, H., Zhang, L., Xu, Y., 2023a: Fermentation improves flavors, bioactive substances, and antioxidant capacity of Bian-Que Triple-Bean Soup by lactic acid bacteria. *Frontiers in Microbiology* **14**, 1152654.

Li, Y., Cheng, M., Zha, Y., Yang, K., Tong, Y., Wang, S., Lu, Q., Ning, K., 2023b: Gut microbiota and inflammation patterns for specialized athletes: a multi-cohort study across different types of sports. *MSystems* **8**(4), e0025923.

Li, Z., Zhou, J., Liang, H., Ye, L., Lan, L., Lu, F., Wang, Q., Lei, T., Yang, X., Cui, P., Huang, J., (2022): Differences in Alpha Diversity of Gut Microbiota in Neurological Diseases. *Frontiers in Neuroscience* **16**.

Lim, J.-M., Letchumanan, V., Tan, L. T.-H., Hong, K.-W., Wong, S.-H., Ab Mutalib, N.-S., Lee, L.-H., Law, J. W.-F., (2022): Ketogenic Diet: A Dietary Intervention via Gut Microbiome Modulation for the Treatment of Neurological and Nutritional Disorders (a Narrative Review). *Nutrients* **14**(17).

Lisko, D. J., Johnston, G. P., Johnston, C. G., (2017): Effects of Dietary Yogurt on the Healthy Human Gastrointestinal (GI) Microbiome. *Microorganisms* **5**(1).

Liu, Y.-X., Qin, Y., Chen, T., Lu, M., Qian, X., Guo, X., Bai, Y., 2021a: A practical guide to amplicon and metagenomic analysis of microbiome data. *Protein, cell* **12**(5), 315–330.

Liu, Z., Li, J., Zhou, X., Wei, B., Xie, S., Du, T., Zhao, X., Jiang, L., Xiong, T., 2021b: The lactic acid bacteria and yeast community of home-made sauerkraut from three provinces in Southwest China. *Archives of microbiology* **203**(6), 3171–3182.

Lustgarten, M. S., (2019): The Role of the Gut Microbiome on Skeletal Muscle Mass and Physical Function: 2019 Update. *Frontiers in physiology* **10**, 1435.

Macfarlane, G. T., Allison, C., Gibson, S. A., Cummings, J. H., (1988): Contribution of the microflora to proteolysis in the human large intestine. *The Journal of applied bacteriology* **64**(1), 37–46.

Mach, N., Fuster-Botella, D., (2017): Endurance exercise and gut microbiota: A review.

Journal of sport and health science **6**(2), 179–197.

Macori, G., Cotter, P. D., (2018): Novel insights into the microbiology of fermented dairy foods. *Current opinion in biotechnology* **49**, 172–178.

Madsen, L., Myrmel, L. S., Fjære, E., Liaset, B., Kristiansen, K., (2017): Links between Dietary Protein Sources, the Gut Microbiota, and Obesity. *Frontiers in physiology* **8**, 1047.

Magnúsdóttir, S., Ravcheev, D., de Crécy-Lagard, V., Thiele, I., (2015): Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes. *Frontiers in Genetics* **6**.

Mahnic, A., Breznik, V., Bombek Ihan, M., Rupnik, M., (2021): Comparison Between Cultivation and Sequencing Based Approaches for Microbiota Analysis in Swabs and Biopsies of Chronic Wounds. *Frontiers in Medicine* **8**.

Mailing, L. J., Allen, J. M., Buford, T. W., Fields, C. J., Woods, J. A., (2019): Exercise and the Gut Microbiome: A Review of the Evidence, Potential Mechanisms, and Implications for Human Health. *Exercise and sport sciences reviews* **47**(2), 75–85.

Makki, K., Deehan, E. C., Walter, J., Bäckhed, F., (2018): The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. *Cell host, microbe* **23**(6), 705–715.

Maldonado-Gómez, M. X., Martínez, I., Bottacini, F., O'Callaghan, A., Ventura, M., van Sinderen, D., Hillmann, B., Vangay, P., Knights, D., Hutkins, R. W., Walter, J., (2016): Stable Engraftment of Bifidobacterium longum AH1206 in the Human Gut Depends on Individualized Features of the Resident Microbiome. *Cell host, microbe* **20**(4), 515–526.

Mancin, L., Amatori, S., Caprio, M., Sattin, E., Bertoldi, L., Cenci, L., Sisti, D., Bianco, A., Paoli, A., (2022): Effect of 30 days of ketogenic Mediterranean diet with phytoextracts on athletes' gut microbiome composition. *Frontiers in Nutrition* **9**, 979651.

Marco, M. L., Hutkins, R., Hill, C., Fulgoni, V. L., Cifelli, C. J., Gahche, J., Slavin, J. L., Merenstein, D., Tancredi, D. J., Sanders, M. E., (2022): A Classification System for Defining and Estimating Dietary Intake of Live Microbes in US Adults and Children. *The Journal of nutrition* **152**(7), 1729–1736.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J., Hutkins, R., (2017): Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology* **44**, 94–102.

Marco, M. L., Sanders, M. E., Gänzle, M., Arrieta, M. C., Cotter, P. D., De Vuyst, L., Hill, C., Holzapfel, W., Lebeer, S., Merenstein, D., Reid, G., Wolfe, B. E., Hutkins, R., (2021): The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. *Nature Reviews Gastroenterology, Hepatology* **18**(3), 196–208.

Margolis, K. G., Cryan, J. F., Mayer, E. A., (2021): The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology* **160**(5), 1486–1501.

Martarelli, D., Verdenelli, M. C., Scuri, S., Cocchioni, M., Silvi, S., Cecchini, C., Pompei, P., (2011): Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. *Current microbiology* **62**(6), 1689–1696.

Marttinen, M., Ala-Jaakkola, R., Laitila, A., Lehtinen, M. J., (2020): Gut Microbiota, Probiotics and Physical Performance in Athletes and Physically Active Individuals. *Nutrients* **12**(10).

Maseda, D., Ricciotti, E., (2020): NSAID-Gut Microbiota Interactions. *Frontiers in pharmacology* **11**, 1153.

Matijašić, M., Meštrović, T., Paljetak, H. Č., Perić, M., Barešić, A., Verbanac, D., (2020): Gut Microbiota beyond Bacteria-Mycobiome, Virome, Archaeome, and Eukaryotic Parasites in IBD. *International journal of molecular sciences* **21**(8).

Matsumoto, M., Inoue, R., Tsukahara, T., Ushida, K., Chiji, H., Matsubara, N., Hara, H., (2008): Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-butyrate concentration in the rat cecum. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* **72**(2), 572–576.

Maughan, R. J., Burke, L. M., Dvorak, J., Larson-Meyer, D. E., Peeling, P., Phillips, S. M., Rawson, E. S., Walsh, N. P., Garthe, I., Geyer, H., Meeusen, R., van Loon, L. J. C., Shirreffs, S. M., Spriet, L. L., Stuart, M., Vernec, A., Currell, K., Ali, V. M., Budgett, R. G., Ljungqvist, A., Mountjoy, M., Pitsiladis, Y. P., Soligard, T., Erdener, U., Engebretsen, L., (2018): IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. *British journal of sports medicine* **52**(7), 439–455.

Mazzantini, D., Calvigioni, M., Celandroni, F., Lupetti, A., Ghelardi, E., (2021): Spotlight on the Compositional Quality of Probiotic Formulations Marketed Worldwide. *Frontiers in Microbiology* **12**.

McGovern, P., Jalabadze, M., Batiuk, S., Callahan, M. P., Smith, K. E., Hall, G. R., Kvavadze, E., Maghradze, D., Rusishvili, N., Bouby, L., Failla, O., Cola, G., Mariani, L., Boaretto, E., Bacilieri, R., This, P., Wales, N., Lordkipanidze, D., (2017): Early Neolithic wine of Georgia in the South Caucasus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **114**(48), E10309–E10318.

McGovern, P. E., Zhang, J., Tang, J., Zhang, Z., Hall, G. R., Moreau, R. A., Nuñez, A., Butrym, E. D., Richards, M. P., Wang, C.-S., Cheng, G., Zhao, Z., Wang, C., (2004): Fermented beverages of pre- and proto-historic China. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**(51), 17593–17598.

McKay, A. K. A., Stellingwerff, T., Smith, E. S., Martin, D. T., Mujika, I., Goosey-Tolfrey, V. L., Sheppard, J., Burke, L. M., (2022): Defining Training and Performance Caliber: A Participant Classification Framework. *International journal of sports physiology and performance* **17**(2), 317–331.

Merenstein, D., Pot, B., Leyer, G., Ouwehand, A. C., Preidis, G. A., Elkins, C. A., Hill, C., Lewis, Z. T., Shane, A. L., Zmora, N., Petrova, M. I., Collado, M. C., Morelli, L., Montoya, G. A., Szajewska, H., Tancredi, D. J., Sanders, M. E., (2023): Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives. *Gut microbes* **15**(1), 2185034.

Michalickova, D., Minic, R., Dikic, N., Andjelkovic, M., Kostic-Vucicevic, M., Stojmenovic, T., Nikolic, I., Djordjevic, B., (2016): Lactobacillus helveticus Lafti L10 supplementation reduces respiratory infection duration in a cohort of elite athletes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme* **41**(7), 782–789.

Michalickova, D. M., Kostic-Vucicevic, M. M., Vukasinovic-Vesic, M. D., Stojmenovic, T. B., Dikic, N. V, Andjelkovic, M. S., Djordjevic, B. I., Tanaskovic, B. P., Minic, R. D., (2017): Lactobacillus helveticus Lafti L10 Supplementation Modulates Mucosal and Humoral Immunity in Elite Athletes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of strength and conditioning research* **31**(1), 62–70.

Mohr, A. E., Jäger, R., Carpenter, K. C., Kerksick, C. M., Purpura, M., Townsend, J. R., West, N. P., Black, K., Gleeson, M., Pyne, D. B., Wells, S. D., Arent, S. M., Kreider, R. B., Campbell, B. I., Bannock, L., Scheiman, J., Wissent, C. J., Pane, M., (2020): The athletic gut microbiota. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. **8**(10)

Moore, D. R., (2019): Maximizing Post-exercise Anabolism: The Case for Relative Protein Intakes. *Frontiers in Nutrition* **6**, 147.

Moreno-Arribas, M. V., Bartolomé, B., Peñalvo, J. L., Pérez-Matute, P., Motilva, M. J., (2020): Relationship between Wine Consumption, Diet and Microbiome Modulation in Alzheimer's Disease. *Nutrients* **12**(10).

Moreno-Pérez, D., Bressa, C., Bailén, M., Hamed-Bousdar, S., Naclerio, F., Carmona, M., Pérez, M., González-Soltero, R., Montalvo-Lominchar, M. G., Carabaña, C., Larrosa, M., (2018): Effect of a Protein Supplement on the Gut Microbiota of Endurance Athletes: A Randomized, Controlled, Double-Blind Pilot Study. *Nutrients* **10**(3).

Mörkl, S., Lackner, S., Müller, W., Gorkiewicz, G., Kashofer, K., Oberascher, A., Painold, A., Holl, A., Holzer, P., Meinitzer, A., Mangge, H., Holasek, S., (2017): Gut microbiota and body composition in anorexia nervosa inpatients in comparison to athletes, overweight, obese, and normal weight controls. *The International journal of eating disorders* **50**(12), 1421–1431.

Moroti, C., Souza Magri, L. F., de Rezende Costa, M., Cavallini, D. C. U., Sivieri, K., (2012): Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. *Lipids in health and disease* **11**, 29.

Moses, F. M., (2005): Exercise-associated intestinal ischemia. *Current sports medicine reports* **4**(2), 91–95.

Mota de Carvalho, N., Costa, E. M., Silva, S., Pimentel, L., Fernandes, T. H., Pintado, M. E., (2018): Fermented Foods and Beverages in Human Diet and Their Influence on Gut Microbiota and Health. *Fermentation* **4**(4).

Mozaffarian, D., Hao, T., Rimm, E. B., Willett, W. C., Hu, F. B., (2011): Changes in diet and lifestyle and long-term weight gain in women and men. *The New England journal of medicine* **364**(25), 2392–2404.

Mueller, K., Kokotilo, M. S., Carter, J. M., Thiesen, A., Madsen, K. L., Studzinski, J., Khadaroo, R. G., Churchill, T. A., (2018): Creatine-loading preserves intestinal barrier function during organ preservation. *Cryobiology* **84**, 69–76.

Munukka, E., Ahtiainen, J. P., Puigbó, P., Jalkanen, S., Pahkala, K., Keskitalo, A., Kujala, U. M., Pietilä, S., Hollmén, M., Elo, L., Huovinen, P., D'Auria, G., Pekkala, S., (2018): Six-

Week Endurance Exercise Alters Gut Metagenome That Is not Reflected in Systemic Metabolism in Over-weight Women. *Frontiers in Microbiology* **9**, 2323.

Murphy, N. E., Carrigan, C. T., Margolis, L. M., (2021): High-Fat Ketogenic Diets and Physical Performance: A Systematic Review. *Advances in nutrition* **12**(1), 223–233.

Murugesan, S., Ulloa-Martínez, M., Martínez-Rojano, H., Galván-Rodríguez, F. M., Miranda-Brito, C., Romano, M. C., Piña-Escobedo, A., Pizano-Zárate, M. L., Hoyo-Vadillo, C., García-Mena, J., (2015): Study of the diversity and short-chain fatty acids production by the bacterial community in overweight and obese Mexican children. *European journal of clinical microbiology, infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology* **34**(7), 1337–1346.

Muyyarikkandy, M. S., Schlesinger, M., Ren, Y., Gao, M., Liefeld, A., Reed, S., Amalaradjou, M. A., (2023): In ovo probiotic supplementation promotes muscle growth and development in broiler embryos. *Poultry Science* **102**(7), 102744.

Nadatani, Y., Watanabe, T., Shimada, S., Otani, K., Tanigawa, T., Fujiwara, Y., (2018): Microbiome and intestinal ischemia/reperfusion injury. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* **63**(1), 26–32.

Nakamura, S., Kuda, T., An, C., Kanno, T., Takahashi, H., Kimura, B., (2012): Inhibitory effects of Leuconostoc mesenteroides 1RM3 isolated from narezushi, a fermented fish with rice, on Listeria monocytogenes infection to Caco-2 cells and A/J mice. *Anaerobe* **18**(1), 19–24.

Nash, V., Ranadheera, C. S., Georgousopoulou, E. N., Mellor, D. D., Panagiotakos, D. B., McKune, A. J., Kellett, J., Naumovski, N., (2018): The effects of grape and red wine polyphenols on gut microbiota - A systematic review. *Food research international* **113**, 277–287.

Nay, K., Jollet, M., Goustard, B., Baati, N., Vernus, B., Pontones, M., Lefeuvre-Orfila, L., Bendavid, C., Rué, O., Mariadassou, M., Bonnieu, A., Ollendorff, V., Lepage, P., Derbré, F., Koechlin-Ramonatxo, C., (2019): Gut bacteria are critical for optimal muscle function: a potential link with glucose homeostasis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* **317**(1), E158–E171.

Neu, A. T., Allen, E. E., Roy, K., (2021): Defining and quantifying the core microbiome: Challenges and prospects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United*

States of America **118**(51).

Nielsen, E. S., Garnås, E., Jensen, K. J., Hansen, L. H., Olsen, P. S., Ritz, C., Krych, L., Nielsen, D. S., (2018): Lacto-fermented sauerkraut improves symptoms in IBS patients independent of product pasteurisation - a pilot study. *Food, function* **9**(10), 5323–5335.

Nikolić, M., Milešević, J., Zeković, M., Gurinović, M., Glibetić, M., (2018): The Development and Validation of Food Atlas for Portion Size Estimation in the Balkan Region *Frontiers in Nutrition* **5**.

Nolte, S., Krüger, K., Lenz, C., Zentgraf, K., (2023): Optimizing the Gut Microbiota for Individualized Performance Development in Elite Athletes. *Biology* **12**(12), 1–24.

O'Brien, K. V, Stewart, L. K., Forney, L. A., Aryana, K. J., Prinyawiwatkul, W., Boeneke, C. A., (2015): The effects of postexercise consumption of a kefir beverage on performance and recovery during intensive endurance training. *Journal of dairy science* **98**(11), 7446–7449.

O'Brien, M. T., O'Sullivan, O., Claesson, M. J., Cotter, P. D., (2022): The Athlete Gut Microbiome and its Relevance to Health and Performance: A Review. *Sports medicine* **52**(Suppl 1), 119–128.

O'Donovan, C. M., Madigan, S. M., Garcia-Perez, I., Rankin, A., O' Sullivan, O., Cotter, P. D., (2020): Distinct microbiome composition and metabolome exists across subgroups of elite Irish athletes. *Journal of science and medicine in sport* **23**(1), 63–68.

Oliphant, K., Allen-Vercoe, E., (2019): Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health. *Microbiome* **7**(1), 91.

de Oliveira, E. P., Burini, R. C., (2011): Food-dependent, exercise-induced gastrointestinal distress. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **8**(1), 12.

Omagari, K., Sakaki, M., Tsujimoto, Y., Shiogama, Y., Iwanaga, A., Ishimoto, M., Yamaguchi, A., Masuzumi, M., Kawase, M., Ichimura, M., Yoshitake, T., Miyahara, Y., (2014): Coffee consumption is inversely associated with depressive status in Japanese patients with type 2 diabetes. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* **55**(2), 135–142.

OREN, A., GARRITY, G. M., (2021): Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **71**(10).

Ortiz-Alvarez, L., Xu, H., Martinez-Tellez, B., (2020): Influence of Exercise on the Human Gut Microbiota of Healthy Adults: A Systematic Review. *Clinical and translational gastroenterology* **11**(2), e00126.

Pace, F., Macchini, F., Massimo Castagna, V., (2020): Safety of probiotics in humans: A dark side revealed? *Digestive and Liver Disease* **52**(9), 981–985.

Pagnini, C., Saeed, R., Bamias, G., Arseneau, K. O., Pizarro, T. T., Cominelli, F., (2010): Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **107**(1), 454–459.

De Palma, G., Nadal, I., Collado, M. C., Sanz, Y., (2009): Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult human subjects. *The British journal of nutrition* **102**(8), 1154–1160.

Palmnäs-Bédard, M., de Santa Izabel, A., Dicksved, J., Landberg, R., (2023): Characterization of the Bacterial Composition of 47 Fermented Foods in Sweden. *Foods* **12**(20).

Papadaki, A., Johnson, L., Toumpakari, Z., England, C., Rai, M., Toms, S., Penfold, C., Zazpe, I., Martínez-González, M. A., Feder, G., (2018): Validation of the English Version of the 14-Item Mediterranean Diet Adherence Screener of the PREDIMED Study, in People at High Cardiovascular Risk in the UK. *Nutrients* **10**(2).

Park, J.-S., Joe, I., Rhee, P. D., Jeong, C.-S., Jeong, G., (2017): A lactic acid bacterium isolated from kimchi ameliorates intestinal inflammation in DSS-induced colitis. *Journal of microbiology* **55**(4), 304–310.

Park, K.-Y., Jeong, J.-K., Lee, Y.-E., Daily, J. W. 3rd, (2014): Health benefits of kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food. *Journal of medicinal food* **17**(1), 6–20.

Park, S.-K., Kim, M.-S., Roh, S. W., Bae, J.-W., (2012): Blautia stercoris sp. nov., isolated from human faeces. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **62**(Pt 4), 776–779.

Parkar, S. G., Trower, T. M., Stevenson, D. E., (2013): Fecal microbial metabolism of polyphenols and its effects on human gut microbiota. *Anaerobe* **23**, 12–19.

Patra, J. K., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., (2016): Kimchi and Other Widely Consumed Traditional Fermented Foods of Korea: A Review. *Frontiers in Microbiology* **7**, 1493.

Payne, A. N., Chassard, C., Lacroix, C., (2012): Gut microbial adaptation to dietary consumption of fructose, artificial sweeteners and sugar alcohols: implications for host-microbe interactions contributing to obesity. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* **13**(9), 799–809.

Pessione, E., (2012): Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. Frontiers in cellular and infection microbiology **2**, 86.

Peters, H. P., De Vries, W. R., Vanberge-Henegouwen, G. P., Akkermans, L. M., (2001): Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. *Gut* **48**(3), 435–439.

Petersen, L. M., Bautista, E. J., Nguyen, H., Hanson, B. M., Chen, L., Lek, S. H., Sodergren, E., Weinstock, G. M., (2017): Community characteristics of the gut microbiomes of competitive cyclists. *Microbiome* **5**(1), 98.

Picca, A., Fanelli, F., Calvani, R., Mulè, G., Pesce, V., Sisto, A., Pantanelli, C., Bernabei, R., Landi, F., Marzetti, E., (2018): Gut Dysbiosis and Muscle Aging: Searching for Novel Targets against Sarcopenia. *Mediators of inflammation* 2018, 7026198.

Pier, M., Guarino, L., Altomare, A., Emerenziani, S., Rosa, C. Di, Ribolsi, M., Balestrieri, P., Iovino, P., Rocchi, G., Cicala, M., (2020): Mechanisms of Action of Prebiotics and Their Effects on Gastro-Intestinal Disorders in Adults 1–24.

Pihurov, M., Păcularu-Burada, B., Cotârleț, M., Grigore-Gurgu, L., Borda, D., Stănciuc, N., Kluz, M., Bahrim, G. E., (2023): Kombucha and Water Kefir Grains Microbiomes' Symbiotic Contribution to Postbiotics Enhancement. *Foods* **12**(13).

Plé, C., Breton, J., Daniel, C., Foligné, B., (2015): Maintaining gut ecosystems for health: Are transitory food bugs stowaways or part of the crew? *International journal of food microbiology* **213**, 139–143.

Polese, B., Nicolai, E., Genovese, D., Verlezza, V., La Sala, C. N., Aiello, M., Inglese, M., Incoronato, M., Sarnelli, G., De Rosa, T., Schiatti, A., Mondelli, F., Ercolini, D., Cuomo, R., (2018): Postprandial Gastrointestinal Function Differs after Acute Administration of Sourdough Compared with Brewer's Yeast Bakery Products in Healthy Adults. *The*

Journal of nutrition **148**(2), 202–208.

Ponziani, F. R., Zocco, M. A., D'Aversa, F., Pompili, M., Gasbarrini, A., (2017): Eubiotic properties of rifaximin: Disruption of the traditional concepts in gut microbiota modulation. *World journal of gastroenterology* **23**(25), 4491–4499.

Portune, K. J., Beaumont, M., Davila, A.-M., Tomé, D., Blachier, F., Sanz, Y., (2016): Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health-related outcomes: The two sides of the coin. *Trends in Food Science, Technology* **57**, 213–232.

Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenberghe, L. P. S., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V., Soccol, C. R., (2015): Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology* **6**, 1177.

Proctor, L., LoTempio, J., Marquitz, A., Daschner, P., Xi, D., Flores, R., Brown, L., Ranallo, R., Maruvada, P., Regan, K., Dwayne Lunsford, R., Reddy, M., Caler, L., Team, N. I. H. H. M. P. A., (2019): A review of 10 years of human microbiome research activities at the US National Institutes of Health, Fiscal Years 2007-2016. *Microbiome* **7**(1), 31.

Prokopidis, K., Giannos, P., Kirwan, R., Ispoglou, T., Galli, F., Witard, O. C., Triantafyllidis, K. K., Kechagias, K. S., Morwani-Mangnani, J., Ticinesi, A., Isanejad, M., (2023): Impact of probiotics on muscle mass, muscle strength and lean mass: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle* **14**(1), 30–44.

Przewłócka, K., Korewo-Labelle, D., Berezka, P., Karnia, M. J., Kaczor, J. J., (2024): Current Aspects of Selected Factors to Modulate Brain Health and Sports Performance in Athletes. *Nutrients* **16**(12), 1842.

Purdel, C., Margină, D., Adam-Dima, I., Ungurianu, A., (2023): The Beneficial Effects of Dietary Interventions on Gut Microbiota—An Up-to-Date Critical Review and Future Perspectives. *Nutrients* **15**(23).

Purty, R., Chatterjee, S., (2016): DNA Barcoding: An Effective Technique in Molecular Taxonomy. *Austin Journal of Biotechnology, Bioengineering* **3**, 1059.

Pyne, D. B., West, N. P., Cox, A. J., Cripps, A. W., (2015): Probiotics supplementation for athletes - clinical and physiological effects. *European journal of sport science* **15**(1), 63–72.

Pyo, Y., Kwon, K. H., Jung, Y. J., (2024): Probiotic Functions in Fermented Foods: Anti-Viral, Immunomodulatory, and Anti-Cancer Benefits. *Foods* **13**(15).

Quigley, E. M. M., Gajula, P., (2020): Recent advances in modulating the microbiome. *F1000Research* **9**.

Quigley, L., O'Sullivan, O., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Cotter, P. D., (2012): High-throughput sequencing for detection of subpopulations of bacteria not previously associated with artisanal cheeses. *Applied and environmental microbiology* **78**(16), 5717–5723.

Rai, A. K., Sanjukta, S., Jeyaram, K., (2017): Production of angiotensin I converting enzyme inhibitory (ACE-I) peptides during milk fermentation and their role in reducing hypertension. *Critical reviews in food science and nutrition* **57**(13), 2789–2800.

Raninen, K., Lappi, J., Kolehmainen, M., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., Poutanen, K., Raatikainen, O., (2017): Diet-derived changes by sourdough-fermented rye bread in exhaled breath aspiration ion mobility spectrometry profiles in individuals with mild gastrointestinal symptoms. *International journal of food sciences and nutrition* **68**(8), 987–996.

Rau, S., Gregg, A., Yaceczko, S., Limketkai, B., (2024): Prebiotics and Probiotics for Gastrointestinal Disorders. *Nutrients* **16**(6).

Reddy, L., Wee, Y., Narala, V., Joshi, V., (2018): Development of New Probiotic Foods—A Case Study on Probiotic Juices. Therapeutic, Probiotic, and Unconventional *Foods*. p. 55–78.

Ren, Y., Wu, J., Wang, Y., Zhang, L., Ren, J., Zhang, Z., Chen, B., Zhang, K., Zhu, B., Liu, W., Li, S., Li, X., (2023): Lifestyle patterns influence the composition of the gut microbiome in a healthy Chinese population. *Scientific reports* **13**(1), 14425.

Reuben, R. C., Langer, D., Eisenhauer, N., Jurburg, S. D., (2023): Universal drivers of cheese microbiomes. *IScience* **26**(1), 105744.

Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., Hutkins, R., (2018): Fermented Foods as a Dietary Source of Live Organisms. *Frontiers in Microbiology* **9**, 1785.

Rhee, S. H., Pothoulakis, C., Mayer, E. A., (2009): Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature reviews. Gastroenterology, hepatology* **6**(5),

306–314.

Di Rienzi, S. C., Britton, R. A., (2020): Adaptation of the Gut Microbiota to Modern Dietary Sugars and Sweeteners. *Advances in nutrition* **11**(3), 616–629.

Rinninella, E., Costantini, L., (2022): Polyunsaturated Fatty Acids as Prebiotics: Innovation or Confirmation? *Foods* 11(2).

Roberfroid, M. B., (2002): Global view on functional foods: European perspectives. *The British journal of nutrition* **88** Suppl 2, S133-8.

Roberts, J. D., Suckling, C. A., Peedle, G. Y., Murphy, J. A., Dawkins, T. G., Roberts, M. G., (2016): An Exploratory Investigation of Endotoxin Levels in Novice Long Distance Triathletes, and the Effects of a Multi-Strain Probiotic/Prebiotic, Antioxidant Intervention. *Nutrients* **8**(11).

Roca Rubio, M. F., Folkesson, M., Kremp, C., Evertsson, N., Repsilber, D., Eriksson, U., Ganda Mall, J.-P., Kadi, F., Brummer, R. J., König, J., (2024): Associations between various markers of intestinal barrier and immune function after a high-intensity exercise challenge. *Physiological reports* **12**(10), e16087.

Rogerson, D., (2017): Vegan diets: practical advice for athletes and exercisers. Journal of the *International Society of Sports Nutrition* **14**, 36.

La Rosa, S. L., Leth, M. L., Michalak, L., Hansen, M. E., Pudlo, N. A., Glowacki, R., Pereira, G., Workman, C. T., Arntzen, M. Ø., Pope, P. B., Martens, E. C., Hachem, M. A., Westereng, B., (2019): The human gut Firmicute Roseburia intestinalis is a primary degrader of dietary β-mannans. *Nature communications* **10**(1), 905.

Roselli, M., Natella, F., Zinno, P., Guantario, B., Canali, R., Schifano, E., De Angelis, M., Nikoloudaki, O., Gobbetti, M., Perozzi, G., Devirgiliis, C., (2021): Colonization Ability and Impact on Human Gut Microbiota of Foodborne Microbes From Traditional or Probiotic-Added Fermented Foods: A Systematic Review. *Frontiers in Nutrition* **8**, 689084.

Ross, R. P., Morgan, S., Hill, C., (2002): Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology* **79**(1–2), 3–16.

Rousseaux, A., Brosseau, C., Bodinier, M., (2023): Immunomodulation of B Lymphocytes by Prebiotics, Probiotics and Synbiotics: Application in Pathologies. *Nutrients* **15**(2).

Roux, S., Enault, F., le Bronner, G., Debroas, D., (2011): Comparison of 16S rRNA and protein-coding genes as molecular markers for assessing microbial diversity (acteria and rchaea) in ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology* **78**(3), 617–628.

Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele, I., Tuohy, K., (2018): Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European journal of nutrition* **57**(1), 1–24.

Le Roy, C. I., Kurilshikov, A., Leeming, E. R., Visconti, A., Bowyer, R. C. E., Menni, C., Falchi, M., Koutnikova, H., Veiga, P., Zhernakova, A., Derrien, M., Spector, T. D., (2022): Yoghurt consumption is associated with changes in the composition of the human gut microbiome and metabolome. *BMC microbiology* **22**(1), 39.

Rozenberg, S., Body, J.-J., Bruyère, O., Bergmann, P., Brandi, M. L., Cooper, C., Devogelaer, J.-P., Gielen, E., Goemaere, S., Kaufman, J.-M., Rizzoli, R., Reginster, J.-Y., (2016): Effects of Dairy Products Consumption on Health: Benefits and Beliefs--A Commentary from the Belgian Bone Club and the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases. *Calcified tissue international* **98**(1), 1–17.

Ruggeri, S., Buonocore, P., Amoriello, T., (2022): New Validated Short Questionnaire for the Evaluation of the Adherence of Mediterranean Diet and Nutritional Sustainability in All Adult Population Groups. *Nutrients* **14**(23).

Ryan, P. M., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Caplice, N. M., Stanton, C., (2015): Sugar-coated: exopolysaccharide producing lactic acid bacteria for food and human health applications. *Food, function* **6**(3), 679–693.

Saha Turna, N., Chung, R., McIntyre, L., (2024): A review of biogenic amines in fermented foods: Occurrence and health effects. *Heliyon* **10**(2), e24501.

Saleh, N., Mahmoud, H. E., Eltaher, H., Helmy, M., El-Khordagui, L., Hussein, A. A., (2023): Prodigiosin-Functionalized Probiotic Ghosts as a Bioinspired Combination Against Colorectal Cancer Cells. *Probiotics and antimicrobial proteins* **15**(5), 1271–1286.

Salleh, R. M., Kuan, G., Aziz, M. N. A., Rahim, M. R. A., Rahayu, T., Sulaiman, S., Kusuma, D. W. Y., Adikari, A. M. G. C. P., Razam, M. S. M., Radhakrishnan, A. K., Appukutty, M., (2021): Effects of Probiotics on Anxiety, Stress, Mood and Fitness of Badminton Players. *Nutrients* **13**(6).

Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., Vinderola, G., 2021a: Publisher Correction: The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature reviews. Gastroenterology, hepatology* **18**(9), 671.

Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., Vinderola, G., 2021b: The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* **18**(9), 649–667.

Samaranayaka, A. G. P., Li-Chan, E. C. Y., (2011): Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. Journal of Functional *Foods* **3**(4), 229–254.

Sanders, M. E., Akkermans, L. M. A., Haller, D., Hammerman, C., Heimbach, J., Hörmannsperger, G., Huys, G., Levy, D. D., Lutgendorff, F., Mack, D., Phothirath, P., Solano-Aguilar, G., Vaughan, E., (2010): Safety assessment of probiotics for human use. *Gut microbes* **1**(3), 164–185.

Şanlier, N., Gökcen, B. B., Sezgin, A. C., (2019): Health benefits of fermented foods. *Critical reviews in food science and nutrition* **59**(3), 506–527.

Sashihara, T., Nagata, M., Mori, T., Ikegami, S., Gotoh, M., Okubo, K., Uchida, M., Itoh, H., (2013): Effects of Lactobacillus gasseri OLL2809 and α-lactalbumin on university-student athletes: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme* **38**(12), 1228–1235.

Satalic, Z., Baric, I. C., Keser, I., (2007): Diet quality in Croatian university students: energy, macronutrient and micronutrient intakes according to gender. *International journal of food sciences and nutrition* **58**(5), 398–410.

Sawada, D., Kuwano, Y., Tanaka, H., Hara, S., Uchiyama, Y., Sugawara, T., Fujiwara, S., Rokutan, K., Nishida, K., (2019): Daily intake of Lactobacillus gasseri CP2305 relieves fatigue and stress-related symptoms in male university Ekiden runners: A double-blind, randomized, and placebo-controlled clinical trial. *Journal of Functional Foods* **57**, 465–

476.

Scheiman, J., Luber, J. M., Chavkin, T. A., MacDonald, T., Tung, A., Pham, L.-D., Wibowo, M. C., Wurth, R. C., Punthambaker, S., Tierney, B. T., Yang, Z., Hattab, M. W., Avila-Pacheco, J., Clish, C. B., Lessard, S., Church, G. M., Kostic, A. D., (2019): Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nature medicine* **25**(7), 1104–1109.

Schreiber, C., Tamir, S., Golan, R., Weinstein, A., Weinstein, Y., (2021): The effect of probiotic supplementation on performance, inflammatory markers and gastro-intestinal symptoms in elite road cyclists. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* **18**(1), 36.

Schröder, H., Fitó, M., Estruch, R., Martínez-González, M. A., Corella, D., Salas-Salvadó, J., Lamuela-Raventós, R., Ros, E., Salaverría, I., Fiol, M., Lapetra, J., Vinyoles, E., Gómez-Gracia, E., Lahoz, C., Serra-Majem, L., Pintó, X., Ruiz-Gutierrez, V., Covas, M.-I., (2011): A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *The Journal of nutrition* **141**(6), 1140–1145.

Sebastián Domingo, J. J., Sánchez Sánchez, C., (2018): From the intestinal flora to the microbiome. *Revista espanola de enfermedades digestivas* **110**(1), 51–56.

Seel, W., Reiners, S., Kipp, K., Simon, M.-C., Dawczynski, C., (2023): Role of Dietary Fiber and Energy Intake on Gut Microbiome in Vegans, Vegetarians, and Flexitarians in Comparison to Omnivores-Insights from the Nutritional Evaluation (NuEva) Study. *Nutrients* **15**(8).

Sender, R., Fuchs, S., Milo, R., (2016): Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS biology* **14**(8), e1002533.

Servin, A. L., (2004): Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS microbiology reviews* **28**(4), 405–440.

Sheflin, A. M., Melby, C. L., Carbonero, F., Weir, T. L., (2017): Linking dietary patterns with gut microbial composition and function. *Gut microbes* **8**(2), 113–129.

Shenderov, B. A., (2013): Metabiotics: novel idea or natural development of probiotic conception. *Microbial ecology in health and disease* **24**.

Sheu, B.-S., Cheng, H.-C., Kao, A.-W., Wang, S.-T., Yang, Y.-J., Yang, H.-B., Wu, J.-J., (2006): Pretreatment with Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt can

improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual Helicobacter pylori infection after failed triple therapy. *The American journal of clinical nutrition* **83**(4), 864–869.

Shida, K., Sato, T., Iizuka, R., Hoshi, R., Watanabe, O., Igarashi, T., Miyazaki, K., Nanno, M., Ishikawa, F., (2017): Daily intake of fermented milk with Lactobacillus casei strain Shirota reduces the incidence and duration of upper respiratory tract infections in healthy middle-aged office workers. *European journal of nutrition* **56**(1), 45–53.

Shiferaw Terefe, N., Augustin, M. A., (2020): Fermentation for tailoring the technological and health related functionality of food products. *Critical reviews in food science and nutrition* **60**(17), 2887–2913.

Shimizu, T., (2003): Health claims on functional foods: the Japanese regulations and an international comparison. *Nutrition research reviews* **16**(2), 241–252.

Shing, C. M., Peake, J. M., Lim, C. L., Briskey, D., Walsh, N. P., Fortes, M. B., Ahuja, K. D. K., Vitetta, L., (2014): Effects of probiotics supplementation on gastrointestinal permeability, inflammation and exercise performance in the heat. *European journal of applied physiology* **114**(1), 93–103.

Sicard, J.-F., Le Bihan, G., Vogeleer, P., Jacques, M., Harel, J., (2017): Interactions of Intestinal Bacteria with Components of the Intestinal Mucus. *Frontiers in cellular and infection microbiology* **7**, 387.

Siddiqui, S. A., Erol, Z., Rugji, J., Taşçı, F., Kahraman, H. A., Toppi, V., Musa, L., Di Giacinto, G., Bahmid, N. A., Mehdizadeh, M., Castro-Muñoz, R., (2023): An overview of fermentation in the food industry - looking back from a new perspective. *Bioresources and bioprocessing* **10**(1), 85.

Sidhu, S. R. K., Kok, C. W., Kunasegaran, T., Ramadas, A., (2023): Effect of Plant-Based Diets on Gut Microbiota: A Systematic Review of Interventional Studies. *Nutrients* **15**(6).

Singh, P., Rawat, A., Alwakeel, M., Sharif, E., Al Khodor, S., (2020): The potential role of vitamin D supplementation as a gut microbiota modifier in healthy individuals. *Scientific reports* **10**(1), 21641.

Singh, R. K., Chang, H.-W., Yan, D., Lee, K. M., Ucmak, D., Wong, K., Abrouk, M., Farahnik, B., Nakamura, M., Zhu, T. H., Bhutani, T., Liao, W., (2017): Influence of diet on the gut

microbiome and implications for human health. *Journal of translational medicine* **15**(1), 73.

Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Chaiyasut, C., (2019): Effect of Probiotics Supplementations on Health Status of Athletes. *International journal of environmental research and public health* **16**(22).

Smarkusz-Zarzecka, J., Ostrowska, L., Leszczyńska, J., Orywal, K., Cwalina, U., Pogodziński, D., (2020): Analysis of the Impact of a Multi-Strain Probiotic on Body Composition and Cardiorespiratory Fitness in Long-Distance Runners. *Nutrients* **12**(12).

Smiljanec, K., Lennon, S. L., (2019): Sodium, hypertension, and the gut: does the gut microbiota go salty? *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* **317**(6), H1173–H1182.

Smith, K. S., Morris, M. M., Morrow, C. D., Novak, J. R., Roberts, M. D., Frugé, A. D., (2022): Associations between Changes in Fat-Free Mass, Fecal Microbe Diversity, and Mood Disturbance in Young Adults after 10-Weeks of Resistance Training. *Microorganisms* **10**(12).

Snelson, M., Vanuytsel, T., Marques, F. Z., (2024): Breaking the Barrier: The Role of Gut Epithelial Permeability in the Pathogenesis of Hypertension. *Current hypertension reports* **26**(9), 369–38

Soedamah-Muthu, S. S., Masset, G., Verberne, L., Geleijnse, J. M., Brunner, E. J., (2013): Consumption of dairy products and associations with incident diabetes, CHD and mortality in the Whitehall II study. *The British journal of nutrition* **109**(4), 718–726.

Soldán, M., Argalášová, Ľ., Hadvinová, L., Galileo, B., Babjaková, J., (2024): The Effect of Dietary Types on Gut Microbiota Composition and Development of Non-Communicable Diseases: A Narrative Review. *Nutrients* **16**(18).

Solieri, L., Rutella, G. S., Tagliazucchi, D., (2015): Impact of non-starter lactobacilli on release of peptides with angiotensin-converting enzyme inhibitory and antioxidant activities during bovine milk fermentation. *Food Microbiology* **51**, 108–116.

Son, J., Jang, L.-G., Kim, B.-Y., Lee, S., Park, H., (2020): The Effect of Athletes' Probiotic Intake May Depend on Protein and Dietary Fiber Intake. *Nutrients* **12**(10).

Sorrenti, V., Fortinguerra, S., Caudullo, G., Buriani, A., (2020): Deciphering the Role of

Polyphenols in Sports Performance: From Nutritional Genomics to the Gut Microbiota toward Phytonutritional Epigenomics. *Nutrients* **12**(5).

de Souza, M., Drunkler, D. A., Colla, E., (2024): Probiotic Functional Yogurt: Challenges and Opportunities. *Fermentation* **10**(1).

Stackebrandt, E., (2014): The Family Lachnospiraceae. The Prokaryotes: Firmicutes and Tenericutes. p. 197–201.

Stecker, R. A., Moon, J. M., Russo, T. J., Ratliff, K. M., Mumford, P. W., Jäger, R., Purpura, M., Kerksick, C. M., (2020): Bacillus coagulans GBI-30, 6086 improves amino acid absorption from milk protein. *Nutrition, metabolism* **17**, 93.

Stephens, R. W., Arhire, L., Covasa, M., (2018): Gut Microbiota: From Microorganisms to Metabolic Organ Influencing Obesity. *Obesity* **26**(5), 801–809.

Stewart, C. J., Nelson, A., Campbell, M. D., Walker, M., Stevenson, E. J., Shaw, J. A., Cummings, S. P., West, D. J., (2017): Gut microbiota of Type 1 diabetes patients with good glycaemic control and high physical fitness is similar to people without diabetes: an observational study. *Diabetic Medicine* **34**(1), 127–134.

Stiemsma, L. T., Nakamura, R. E., Nguyen, J. G., Michels, K. B., (2020): Does Consumption of Fermented Foods Modify the Human Gut Microbiota? *The Journal of nutrition* **150**(7), 1680–1692.

Stuempfle, K., Hoffman, M., (2015): Gastrointestinal distress is common during a 161-km ultramarathon. *Journal of sports sciences* **33**, 1–8.

Summer, A., Formaggioni, P., Franceschi, P., Di Frangia, F., Righi, F., Malacarne, M., (2017): Cheese as Functional Food: The Example of Parmigiano Reggiano and Grana Padano. *Food technology and biotechnology* **55**(3), 277–289.

Šušković, J., Kos, B., Novak, J., Pavunc, A., Habjanič, K., Matoć, S., (2010): Antimicrobial activity - The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology* **48**, 296–307.

Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., Delzenne, N. M., Sanders, M. E., (2020): The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature reviews. Gastroenterology, hepatology* **17**(11),

687–701.

Swiatczak, B., Rescigno, M., Cohen, I. R., (2011): Systemic features of immune recognition in the gut. *Microbes and infection* **13**(12–13), 983–991.

Szurkowska, J., Wiącek, J., Laparidis, K., Karolkiewicz, J., (2021): A Comparative Study of Selected Gut Bacteria Abundance and Fecal pH in Bodybuilders Eating High-Protein Diet and More Sedentary Controls. *Nutrients* **13**(11).

Takeda, S., Matsufuji, H., Nakade, K., Takenoyama, S., Ahhmed, A., Sakata, R., Kawahara, S., Muguruma, M., (2017): Investigation of lactic acid bacterial strains for meat fermentation and the product's antioxidant and angiotensin-I-converting-enzyme inhibitory activities. *Animal Science Journal* **88**(3), 507–516.

Tamang, J. P., Watanabe, K., Holzapfel, W. H., 2016a: Review: Diversity of Microorganisms in Global Fermented Foods and Beverages. *Frontiers in Microbiology* **7**, 377.

Tamang, J. P., Shin, D.-H., Jung, S.-J., Chae, S.-W., 2016b: Functional Properties of Microorganisms in Fermented Foods. *Frontiers in Microbiology* **7**, 578.

Tamang, J. P., Holzapfel, W. H., Shin, D. H., Felis, G. E., (2017): Editorial: Microbiology of Ethnic Fermented Foods and Alcoholic Beverages of the World. *Frontiers in Microbiology* **8**, 1377.

Tamang, J. P., Cotter, P. D., Endo, A., Han, N. S., Kort, R., Liu, S. Q., Mayo, B., Westerik, N., Hutkins, R., (2020): Fermented foods in a global age: East meets West. *Comprehensive reviews in food science and food safety* **19**(1), 184–217.

Tapsell, L. C., (2015): Fermented dairy food and CVD risk. *The British journal of nutrition* **113** Suppl, S131-5.

Tavares-Silva, E., Caris, A. V., Santos, S. A., Ravacci, G. R., Thomatieli-Santos, R. V., (2021): Effect of Multi-Strain Probiotic Supplementation on URTI Symptoms and Cytokine Production by Monocytes after a Marathon Race: A Randomized, Double-Blind, Placebo Study. *Nutrients* **13**(5).

Taverniti, V., Guglielmetti, S., (2011): The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes, nutrition* **6**(3), 261–274.

Taylor, B. C., Lejzerowicz, F., Poirel, M., Shaffer, J. P., Jiang, L., Aksenov, A., Litwin, N., Humphrey, G., Martino, C., Miller-Montgomery, S., Dorrestein, P. C., Veiga, P., Song, S. J., McDonald, D., Derrien, M., Knight, R., (2020): Consumption of Fermented Foods Is Associated with Systematic Differences in the Gut Microbiome and Metabolome. *MSystems* **5**(2).

Thabane, L., Lancaster, G., (2019): A guide to the reporting of protocols of pilot and feasibility trials. *Pilot and Feasibility Studies* **5**(1), 37.

Thierry, A., Madec, M.-N., Chuat, V., Bage, A.-S., Picard, O., Grondin, C., Rué, O., Mariadassou, M., Marché, L., Valence, F., Valík, Ľ., Succi, M., Matejčeková, Z., (2023): Microbial communities of a variety of 75 homemade fermented vegetables. *Frontiers in Microbiology* **14** 1323424.

Thomas, D. T., Erdman, K. A., Burke, L. M., (2016): Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* **116**(3), 501–528.

Thomas, M. S., Calle, M., Fernandez, M. L., (2023): Healthy plant-based diets improve dyslipidemias, insulin resistance, and inflammation in metabolic syndrome. A narrative review. *Advances in nutrition* **14**(1), 44–54.

Thriene, K., Hansen, S. S., Binder, N., Michels, K. B., Nielsen, E. S., Garnås, E., Jensen, K. J., Hansen, L. H., Olsen, P. S., Ritz, C., Krych, L., Nielsen, D. S., (2022): Effects of Fermented Vegetable Consumption on Human Gut Microbiome Diversity—A Pilot Study. *Fermentation* **8**(3), 5323–5335.

Ticinesi, A., Lauretani, F., Tana, C., Nouvenne, A., Ridolo, E., Meschi, T., (2019): Exercise and immune system as modulators of intestinal microbiome: implications for the gut-muscle axis hypothesis. *Exercise immunology review* **25**, 84–95.

Ticinesi, A., Lauretani, F., Milani, C., Nouvenne, A., Tana, C., Del Rio, D., Maggio, M., Ventura, M., Meschi, T., (2017): Aging Gut Microbiota at the Cross-Road between Nutrition, Physical Frailty, and Sarcopenia: Is There a Gut-Muscle Axis? *Nutrients* **9**(12).

Tillisch, K., Labus, J., Kilpatrick, L., Jiang, Z., Stains, J., Ebrat, B., Guyonnet, D., Legrain-Raspaud, S., Trotin, B., Naliboff, B., Mayer, E. A., (2013): Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology* **144**(7), 1394–401,

1401.e1–4.

Tompkins, T. A., Mainville, I., Arcand, Y., (2011): The impact of meals on a probiotic during transit through a model of the human upper gastrointestinal tract. *Beneficial Microbes* **2**(4), 295–303.

Toohey, J. C., Townsend, J. R., Johnson, S. B., Toy, A. M., Vantrease, W. C., Bender, D., Crimi, C. C., Stowers, K. L., Ruiz, M. D., VanDusseldorp, T. A., Feito, Y., Mangine, G. T., (2020): Effects of Probiotic (Bacillus subtilis) Supplementation During Offseason Resistance Training in Female Division I Athletes. *Journal of strength and conditioning research* **34**(11), 3173–3181.

Touret, T., Oliveira, M., Semedo-Lemsaddek, T., (2018): Putative probiotic lactic acid bacteria isolated from sauerkraut fermentations. *PloS One* **13**(9), 1–16.

Townsend, J. R., Bender, D., Vantrease, W. C., Sapp, P. A., Toy, A. M., Woods, C. A., Johnson, K. D., (2018): Effects of Probiotic (Bacillus subtilis DE111) Supplementation on Immune Function, Hormonal Status, and Physical Performance in Division I Baseball Players. *Sports* **6**(3).

Tsilingiri, K., Rescigno, M., (2013): Postbiotics: what else? *Beneficial Microbes* **4**(1), 101–107.

Turan, İ., Dedeli, Ö., Bor, S., İlter, T., (2014): Effects of a kefir supplement on symptoms, colonic transit, and bowel satisfaction score in patients with chronic constipation: a pilot study. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology* **25**(6), 650–656.

Turner, M. J., Jones, M. V, Whittaker, A. C., Laborde, S., Williams, S., Meijen, C., Tamminen, K. A., (2020): Editorial: Adaptation to Psychological Stress in Sport. *Frontiers in Psychology* **11**.

Turpin-Nolan, S. M., Joyner, M. J., Febbraio, M. A., (2019): Can microbes increase exercise performance in athletes? Nature reviews. Endocrinology **15**(11), 629–630.

Ulrich-Lai, Y. M., Herman, J. P., (2009): Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature reviews. Neuroscience* **10**(6), 397–409.

Unno, T., Choi, J.-H., Hur, H.-G., Sadowsky, M. J., Ahn, Y.-T., Huh, C.-S., Kim, G.-B., Cha, C.-J., (2015): Changes in human gut microbiota influenced by probiotic fermented milk ingestion. *Journal of dairy science* **98**(6), 3568–3576.

Vacca, M., Celano, G., Calabrese, F. M., Portincasa, P., Gobbetti, M., De Angelis, M., (2020): The Controversial Role of Human Gut Lachnospiraceae. *Microorganisms* **8**(4).

De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., Goncalves, D., Vinera, J., Zitoun, C., Duchampt, A., Bäckhed, F., Mithieux, G., (2014): Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits. *Cell* **156**(1–2), 84–96.

Vaisberg, M., Paixão, V., Almeida, E. B., Santos, J. M. B., Foster, R., Rossi, M., Pithon-Curi, T. C., Gorjão, R., Momesso, C. M., Andrade, M. S., Araujo, J. R., Garcia, M. C., Cohen, M., Perez, E. C., Santos-Dias, A., Vieira, R. P., Bachi, A. L. L., (2019): Daily Intake of Fermented Milk Containing Lactobacillus casei Shirota (Lcs) Modulates Systemic and Upper Airways Immune/Inflammatory Responses in Marathon Runners. *Nutrients* **11**(7).

Valentino, T. R., Vechetti, I. J. J., Mobley, C. B., Dungan, C. M., Golden, L., Goh, J., McCarthy, J. J., (2021): Dysbiosis of the gut microbiome impairs mouse skeletal muscle adaptation to exercise. *The Journal of Physiology* **599**(21), 4845–4863.

Valentino, V., Magliulo, R., Farsi, D., Cotter, P. D., O'Sullivan, O., Ercolini, D., De Filippis, F., (2024): Fermented foods, their microbiome and its potential in boosting human health. *Microbial biotechnology* **17**(2), e14428.

Välimäki, I. A., Vuorimaa, T., Ahotupa, M., Kekkonen, R., Korpela, R., Vasankari, T., (2012): Decreased training volume and increased carbohydrate intake increases oxidized LDL levels. *International journal of sports medicine* **33**(4), 291–296.

Vancamelbeke, M., Vermeire, S., (2017): The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert review of gastroenterology, hepatology* **11**(9), 821–834.

Vandeputte, D., Tito Tadeo, R., Vanleeuwen, R., Falony, G., Raes, J., (2017): Practical considerations for large-scale gut microbiome studies. *FEMS microbiology reviews* **41**, S154–S167.

Varian, B. J., Gourishetti, S., Poutahidis, T., Lakritz, J. R., Levkovich, T., Kwok, C., Teliousis, K., Ibrahim, Y. M., Mirabal, S., Erdman, S. E., (2016): Beneficial bacteria inhibit cachexia. *Oncotarget* **7**(11), 11803–11816.

Veiga, P., Pons, N., Agrawal, A., Oozeer, R., Guyonnet, D., Brazeilles, R., Faurie, J.-M., van Hylckama Vlieg, J. E. T., Houghton, L. A., Whorwell, P. J., Ehrlich, S. D., Kennedy, S. P., (2014): Changes of the human gut microbiome induced by a fermented milk product.

Scientific reports **4**, 6328.

Velraeds, M. M., van de Belt-Gritter, B., van der Mei, H. C., Reid, G., Busscher, H. J., (1998): Interference in initial adhesion of uropathogenic bacteria and yeasts to silicone rubber by a Lactobacillus acidophilus biosurfactant. *Journal of medical microbiology* **47**(12), 1081–1085.

Vieco-Saiz, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I., Drider, D., (2019): Benefits and Inputs From Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins as Alternatives to Antibiotic Growth Promoters During Food-Animal Production. *Frontiers in Microbiology* **10**, 57.

Vijay, A., Astbury, S., Le Roy, C., Spector, T. D., Valdes, A. M., (2021): The prebiotic effects of omega-3 fatty acid supplementation: A six-week randomised intervention trial. *Gut microbes* **13**(1), 1–11.

Villanueva, R. A. M., Chen, Z. J., (2019): ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis (2nd ed.). *Measurement: Interdisciplinary Research and Perspectives* **17**(3), 160–167.

Vinderola, G., Cotter, P. D., Freitas, M., Gueimonde, M., Holscher, H. D., Ruas-Madiedo, P., Salminen, S., Swanson, K. S., Sanders, M. E., Cifelli, C. J., (2023): Fermented foods: a perspective on their role in delivering biotics. *Frontiers in Microbiology* **14**, 1196239.

Vitorino, L. C., Bessa, L. A., (2017): Technological Microbiology: Development and Applications. *Frontiers in Microbiology* **8**, 827.

van Vliet, S., Shy, E. L., Abou Sawan, S., Beals, J. W., West, D. W., Skinner, S. K., Ulanov, A. V, Li, Z., Paluska, S. A., Parsons, C. M., Moore, D. R., Burd, N. A., (2017): Consumption of whole eggs promotes greater stimulation of postexercise muscle protein synthesis than consumption of isonitrogenous amounts of egg whites in young men. *The American journal of clinical nutrition* **106**(6), 1401–1412.

Voidarou, C., Antoniadou, M., Rozos, G., Tzora, A., Skoufos, I., Varzakas, T., Lagiou, A., Bezirtzoglou, E., (2020): Fermentative Foods: Microbiology, Biochemistry, Potential Human Health Benefits and Public Health Issues. *Foods* **10**(1).

Voreades, N., Kozil, A., Weir, T. L., (2014): Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in Microbiology* **5**, 494.

de Vrese, M., Schrezenmeir, J., (2008): Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Advances in*

biochemical engineering/biotechnology **111**, 1–66.

de Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M., de Vos, W. M., (2006): Lactobacillus plantarum—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal* **16**(9), 1018–1028.

De Vuyst, L., Vrancken, G., Ravyts, F., Rimaux, T., Weckx, S., (2009): Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota. *Food Microbiology* **26**(7), 666–675.

Walsh, M. E., Bhattacharya, A., Sataranatarajan, K., Qaisar, R., Sloane, L., Rahman, M. M., Kinter, M., Van Remmen, H., (2015): The histone deacetylase inhibitor butyrate improves metabolism and reduces muscle atrophy during aging. *Aging cell* **14**(6), 957–970.

Wang, C., Huang, Z., Yu, K., Ding, R., Ye, K., Dai, C., Xu, X., Zhou, G., Li, C., (2017): High-Salt Diet Has a Certain Impact on Protein Digestion and Gut Microbiota: A Sequencing and Proteome Combined Study. *Frontiers in Microbiology* **8**, 1838.

Wang, F., Li, Q., Wang, C., Tang, C., Li, J., (2012): Dynamic alteration of the colonic microbiota in intestinal ischemia-reperfusion injury. *PloS One* **7**(7), e42027.

Wang, J., Zhang, J., Guo, H., Cheng, Q., Abbas, Z., Tong, Y., Yang, T., Zhou, Y., Zhang, H., Wei, X., Si, D., Zhang, R., (2023): Optimization of Exopolysaccharide Produced by Lactobacillus plantarum R301 and Its Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities. *Foods* **12**(13).

Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., Geng, W., (2021): Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology* **9**, 612285.

Wastyk, H. C., Fragiadakis, G. K., Perelman, D., Dahan, D., Merrill, B. D., Yu, F. B., Topf, M., Gonzalez, C. G., Van Treuren, W., Han, S., Robinson, J. L., Elias, J. E., Sonnenburg, E. D., Gardner, C. D., Sonnenburg, J. L., (2021): Gut-microbiota-targeted diets modulate human immune status. *Cell* **184**(16), 4137-4153.e14.

Wegierska, A. E., Charitos, I. A., Topi, S., Potenza, M. A., Montagnani, M., Santacroce, L., (2022): The Connection Between Physical Exercise and Gut Microbiota: Implications for Competitive Sports Athletes. *Sports medicine* **52**(10), 2355–2369.

Wei, S., Bahl, M. I., Baunwall, S. M. D., Hvas, C. L., Licht, T. R., (2021): Determining Gut

Microbial Dysbiosis: a Review of Applied Indexes for Assessment of Intestinal Microbiota Imbalances. *Applied and Environmental Microbiology* **87**(11), e00395-21.

West, N. P., Pyne, D. B., Cripps, A. W., Christophersen, C. T., Conlon, M. A., Fricker, P. A., (2012): Gut Balance, a synbiotic supplement, increases fecal Lactobacillus paracasei but has little effect on immunity in healthy physically active individuals. *Gut microbes* **3**(3), 221–227.

West, N. P., Pyne, D. B., Cripps, A. W., Hopkins, W. G., Eskesen, D. C., Jairath, A., Christophersen, C. T., Conlon, M. A., Fricker, P. A., (2011): Lactobacillus fermentum (PCC®) supplementation and gastrointestinal and respiratory-tract illness symptoms: a randomised control trial in athletes. *Nutrition journal* **10**, 30.

Whitney, R., Nair, R. R., (2021): Expanding Dietary Therapy Beyond the Classic Ketogenic Diet: On the Use of the Modified Atkins Diet and Low Glycemic Index Treatment in Pediatric Epilepsy. *Indian pediatrics* **58**(9), 811–812.

Wiącek, J., Karolkiewicz, J., (2023): Different Approaches to Ergogenic, Pre-, and Probiotic Supplementation in Sports with Different Metabolism Characteristics: A Mini Review. *Nutrients* **15**(6).

Wiącek, J., Podgórski, T., Kusy, K., Łoniewski, I., Skonieczna-Żydecka, K., Karolkiewicz, J., (2024): Evaluating the Impact of Probiotic Therapy on the Endocannabinoid System, Pain, Sleep and Fatigue: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial in Dancers. *International journal of molecular sciences* **25**(11).

Wilck, N., Matus, M. G., Kearney, S. M., Olesen, S. W., Forslund, K., Bartolomaeus, H., Haase, S., Mähler, A., Balogh, A., Markó, L., Vvedenskaya, O., Kleiner, F. H., Tsvetkov, D., Klug, L., Costea, P. I., Sunagawa, S., Maier, L., Rakova, N., Schatz, V., Neubert, P., Frätzer, C., Krannich, A., Gollasch, M., Grohme, D. A., Côrte-Real, B. F., Gerlach, R. G., Basic, M., Typas, A., Wu, C., Titze, J. M., Jantsch, J., Boschmann, M., Dechend, R., Kleinewietfeld, M., Kempa, S., Bork, P., Linker, R. A., Alm, E. J., Müller, D. N., (2017): Salt-responsive gut commensal modulates T(H)17 axis and disease. *Nature* **551**(7682), 585–589.

Wosinska, L., Cotter, P. D., O'Sullivan, O., Guinane, C., (2019): The Potential Impact of Probiotics on the Gut Microbiome of Athletes. *Nutrients* **11**(10).

Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y. Y., Keilbaugh, S. A., Bewtra, M.,

Knights, D., Walters, W. A., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F. D., Lewis, J. D., (2011): Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* **334**(6052), 105–108.

Wunderlichová, L., Buňková, L., Koutný, M., Jančová, P., Buňka, F., (2014): Formation, Degradation, and Detoxification of Putrescine by Foodborne Bacteria: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **13**(5), 1012–1030.

Xiong, R.-G., Li, J., Cheng, J., Zhou, D.-D., Wu, S.-X., Huang, S.-Y., Saimaiti, A., Yang, Z.-J., Gan, R.-Y., Li, H.-B., (2023): The Role of Gut Microbiota in Anxiety, Depression, and Other Mental Disorders as Well as the Protective Effects of Dietary Components. *Nutrients* **15**(14).

Xu, B., Fu, J., Qiao, Y., Cao, J., Deehan, E. C., Li, Z., Jin, M., Wang, X., Wang, Y., (2021): Higher intake of microbiota-accessible carbohydrates and improved cardiometabolic risk factors: a meta-analysis and umbrella review of dietary management in patients with type 2 diabetes. *The American journal of clinical nutrition* **113**(6), 1515–1530.

Xu, J., Xu, C., Chen, X., Cai, X., Yang, S., Sheng, Y., Wang, T., (2014): Regulation of an antioxidant blend on intestinal redox status and major microbiota in early weaned piglets. *Nutrition* **30**(5), 584–589.

Xu, Y., Zhong, F., Zheng, X., Lai, H.-Y., Wu, C., Huang, C., (2022): Disparity of Gut Microbiota Composition Among Elite Athletes and Young Adults With Different Physical Activity Independent of Dietary Status: A Matching Study. *Frontiers in Nutrition***9**, 843076.

Yadav, S., Khetarpaul, N., (1994): Indigenous legume fermentation: Effect on some antinutrients and in-vitro digestibility of starch and protein. *Food Chemistry* **50**(4), 403–406.

Yang, Q., Liang, Q., Balakrishnan, B., Belobrajdic, D. P., Feng, Q.-J., Zhang, W., 2020a: Role of Dietary Nutrients in the Modulation of Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients* **12**(2).

Yang, X., Hu, W., Xiu, Z., Jiang, A., Yang, X., Saren, G., Ji, Y., Guan, Y., Feng, K., 2020b: Microbial Community Dynamics and Metabolome Changes During Spontaneous Fermentation of Northeast Sauerkraut From Different Households. *Frontiers in Microbiology* **11**, 1878.

Yang, Y., Shi, Y., Wiklund, P., Tan, X., Wu, N., Zhang, X., Tikkanen, O., Zhang, C., Munukka, E., Cheng, S., (2017): The association between cardiorespiratory fitness and gut microbiota composition in premenopausal women. *Nutrients* **9**(8), 1–11.

Yann, D., Pauline, G., (2014): Usefulness of Natural Starters in Food Industry: The Example of Cheeses and Bread. *Food and Nutrition Sciences* **05**, 1679–1691.

Yao, C. K., Muir, J. G., Gibson, P. R., (2016): Review article: insights into colonic protein fermentation, its modulation and potential health implications. *Alimentary pharmacology, therapeutics* **43**(2), 181–196.

Ye, P., Wang, J., Liu, M., Li, P., Gu, Q., (2021): Purification and characterization of a novel bacteriocin from Lactobacillus paracasei ZFM54. *LWT* **143**, 111125.

Yeh, W.-L., Hsu, Y.-J., Ho, C.-S., Ho, H.-H., Kuo, Y.-W., Tsai, S.-Y., Huang, C.-C., Lee, M.-C., (2022): Lactobacillus plantarum PL-02 Supplementation Combined With Resistance Training Improved Muscle Mass, Force, and Exercise Performance in Mice. *Frontiers in Nutrition* **9**.

Yılmaz, İ., Dolar, M. E., Özpınar, H., (2019): Effect of administering kefir on the changes in fecal microbiota and symptoms of inflammatory bowel disease: A randomized controlled trial. *The Turkish journal of gastroenterology : the official journal of Turkish Society of Gastroenterology* **30**(3), 242–253.

Zabat, M. A., Sano, W. H., Wurster, J. I., Cabral, D. J., Belenky, P., (2018): Microbial Community Analysis of Sauerkraut Fermentation Reveals a Stable and Rapidly Established Community. *Foods* **7**(5).

Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suàrez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J., Giraffa, G., (2011): Characterization and probiotic potential of Lactobacillus plantarum strains isolated from cheeses. *Food Microbiology* 28(5), 1033–1040.

van Zanten, G. C., Madsen, A. L., Yde, C. C., Krych, L., Yeung, N., Saarinen, M. T., Kot, W., Jensen, H. M., Rasmussen, M. A., Ouwehand, A. C., Nielsen, D. S., (2024): Randomised, Placebo-Controlled Investigation of the Impact of Probiotic Consumption on Gut Microbiota Diversity and the Faecal Metabolome in Seniors. *Microorganisms* **12**(4).

Zhai, F.-H., Liu, H.-Y., Han, J.-R., (2018): Protein nutritional value, polyphenols and antioxidant properties of corn fermented with Agaricus brasiliensis and Agaricus

bisporus. *World journal of microbiology, biotechnology* **34**(3), 36.

Zhang, C., Derrien, M., Levenez, F., Brazeilles, R., Ballal, S. A., Kim, J., Degivry, M.-C., Quéré, G., Garault, P., van Hylckama Vlieg, J. E. T., Garrett, W. S., Doré, J., Veiga, P., (2016): Ecological robustness of the gut microbiota in response to ingestion of transient food-borne microbes. *The ISME journal* **10**(9), 2235–2245.

Zhang, H., Yeh, C., Jin, Z., Ding, L., Liu, B. Y., Zhang, L., Dannelly, H. K., (2018): Prospective study of probiotic supplementation results in immune stimulation and improvement of upper respiratory infection rate. *Synthetic and systems biotechnology* **3**(2), 113–120.

Zhang, L., Chen, F. X., Zeng, Z., Xu, M., Sun, F., Yang, L., Bi, X., Lin, Y., Gao, Y. J., Hao, H. X., Yi, W., Li, M., Xie, Y., (2021): Advances in Metagenomics and Its Application in Environmental Microorganisms. *Frontiers in Microbiology* **12**(December), 1–15.

Zhang, L., Xiao, H., Zhao, L., Liu, Z., Chen, L., Liu, C., (2023): Comparison of the Effects of Prebiotics and Synbiotics Supplementation on the Immune Function of Male University Football Players. *Nutrients* **15**(5).

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., Lebeer, S., (2020): A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **70**(4), 2782–2858.

Zhou, Q., Zang, S., Zhao, Z., Li, X., (2018): Dynamic changes of bacterial communities and nitrite character during northeastern Chinese sauerkraut fermentation. *Food science and biotechnology* **27**(1), 79–85.

Zhu, J., Zhu, Y., Song, G., (2023): Effect of Probiotic Yogurt Supplementation(Bifidobacterium animalis ssp. lactis BB-12) on Gut Microbiota of Female Taekwondo Athletes and Its Relationship with Exercise-Related Psychological Fatigue. *Microorganisms* **11**(6).

Zuhl, M., Schneider, S., Lanphere, K., Conn, C., Dokladny, K., Moseley, P., (2014): Exercise regulation of intestinal tight junction proteins. *British journal of sports medicine* **48**(12), 980–986.

PRILOG

POPIS KRATICA

CM	crijevna mikrobiota
GABA	gama-aminobutaska kiselina
FODMAP	fermentabilni oligo-, di-, monosaharidi, alkoholi i polioli
SAD	Sjedinjene Američke Države
TNF	čimbenik nekroze tumora, engl. 'tumor necrosis factor'
BTS	tip stolice po Bristol skali
MEDAS	questionnaire on Mediterranean diet adherence
SQM	short questionnaire on Mediterranean diet adherence and diet sustainability
ADI	Athlete Diet Index
BMK	bakterije mliječne kiseline
F/B	Firmicutes/Bacteroidetes omjer
SCFA	kratkolančane masne kiseline, 'short chain fatty acids'
GALT	limfno tkivo crijeva, engl. 'gut-associated lymphoid tissue'
VO_2max	maksimalni aerobni kapacitet
EFC	enzymatic functional cluster
HBIS	high biological impact synthases
LCHF	low-carbohydrate high-fat diet
LPS	lipopolisaharidi
FOS	fruktooligosaharidi
GOS	galaktokooligosaharidi
USDA	United States Department of Agriculture
IPP	izoleucin-prolin-prolin
VPP	valin-prolin-prolin
ACE	angiotenzin-1-konvertirajući enzim
FFQ	Food frequency questionnaire
WGS	whole genome sequencing
rRNA	ribosomal ribonucleic acid
KOMS	Projekt „Kiseli kupus za Optimizaciju crijevne Mikrobiote Športaša“
SCOBY	symbiotic culture of bacteria and yeast

IBS	iritable bowel syndrome
FFM	fat-free mass
BF	body fat
SMM	skeletal muscle mass
FM	fat mass
SD	standardna devijacija
FDR	false discovery rate
HOMA	homeostatski model
CRP	c-reaktivni protein
LDL	low-dense lipoprotein
CI	confidence interval
PCA	primary component analysis
OTU	operational taxonomic unit
ICSP	International Committee on Systematics of Prokaryotes
ICNP	International Codex for Nomenclature of Prokaryotes

ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA

Andrija Karačić rođen je 4.8.1993. godine u Luzernu. Osnovnu i srednju školu pohađa u Luzernu, a studij Medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu i Hamburgu. Specijalizaciju iz abdominalne kirurgije odrađuje u Kliničkoj bolnici Sveti Duh, koju zajedno sa specijalističkim postdiplomskim studijom završava 2024. godine. Zaposlen kao kirurg u Kliničkoj bolnici Sveti Duh. Osnivač Centra za crijevni mikrobiom koji djeluje od 2022. godine. Autor nekoliko znanstvenih radova.

OBJAVLJENI RADOVI

Karačić A, Zonjić J, Stefanov E, Radolović K, Starčević A, Renko I, Krznarić Ž, Ivančić M, Šatalić Z, Liberati Pršo AM. (2024) Short-Term Supplementation of Sauerkraut Induces Favorable Changes in the Gut Microbiota of Active Athletes: A Proof-of-Concept Study. *Nutrients* **16** (24). doi: 10.3390/nu16244421.

Karačić A, Dikarlo P, Dorst I, Renko I, Liberati Pršo A. (2024) The gut microbiome without any plant food? A case study on the gut microbiome of a healthy carnivore. *Microbiota and Host*. **2** (1). doi: 10.1530/MAH-24-0006.

Karačić A, Renko I, Krznarić Ž, Klobučar S, Liberati Pršo AM. (2024) The Association between the Firmicutes/Bacteroidetes Ratio and Body Mass among European Population with the Highest Proportion of Adults with Obesity: An Observational Follow-Up Study from Croatia. *Biomedicines* **12** (10). doi: 10.3390/biomedicines12102263

Bakula B, Belosic Halle Z, Bekic D, Karacic A. (2023) A case of an inverted appendiceal stump with dysplastic mucosa mimicking cecal polyp managed by a combined endoscopic laparoscopic approach. *Revista Espanola Enfermedades Digestivas* **115**(12):715-716. doi: 10.17235/reed.2022.9237/2022

Karačić A, Novak J, Ivković A. (2023) Probiotics in bone fracture treatment? A narrative literature review. Microbiota and Host. November; **1**(1). doi: 10.1530/MAH-23-0003.

Karačić, A., Brkić, J., Theunissen, M., Sović, S., Karimollahi, M., Bakula, B., Karačić, J., Rosmarin, D.H. (2023) Are religious patients less afraid of surgery? A cross-sectional study on the relationship between dimensions of religiousness and surgical fear. *PLoS One*, **18**(7), e0287451. doi: 10.1371/journal.pone.0287451.

Karačić, A., Theunissen, M., Sović, S., Sever, M., Bakula, B., Semanjski, K. (2023) Validation of the Croatian version of the surgical fear questionnaire (SFQ) in adult patients waiting for elective surgery. *Acta Clinica Croatica*, **62**(1), pp. 153-161. doi:10.20471/acc.2023.62.01.18.

Bakula, B., Karačić, A., Stanić, G., Romić, I., Bakula, M., Bogut, A. (2023) Colorectal adenocarcinoma presenting with a pathological fracture due to a solitary bone metastasis to the tibia: a case report and literature review. *Przegląd Gastroenterologiczny*, **18**(1), pp. 115-122. doi:10.5114/pg.2023.126044.

Karačić, A., Stanić, G., Štritof, D., Bakula, B., Jandrić, D., Kekez, I. (2022) Mucinous adenocarcinoma of the colon with clear cell component: a case report and literature review. *Case Reports in Pathology*, 2022, Article ID 7631686. doi:10.1155/2022/7631686.

Soldo, A.M., Soldo, I., Karačić, A., Konjevod, M., Perkovic, M.N., Glavan, T.M., Luksic, M., Žarković, N., Jaganjac, M. (2022) Lipid peroxidation in obesity: Can bariatric surgery help? *Antioxidants* **11**(8). doi:10.3390/antiox11081537.

Bakula, B., Sever, M., Karačić, A., Bakula, M., Grbavac, M., Romić, I., Bogut, A., Zadro, Z. (2021) Extensive abdominal skin necrosis following anterior component separation for a large ventral hernia: a case report. *Frontiers in Surgery*, 8, 779046. doi:10.3389/fsurg.2021.779046.

Karačić, A., Batur, P., Štritof, D., Fukui, T., Bakula, B., Kekez, I. (2021) A novel cause of biliary peritonitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography: Case report and literature review *Case Reports in Gastrointestinal Medicine*, 2021, Article ID 3814080. doi:10.1155/2021/3814080.

Starčević, N., Karačić, A. (2021) Infected nonunion of the distal femur in the elderly with bone loss: Case report and treatment options. *Case Reports in Orthopedics*, 2021, Article ID 3530297. doi:10.1155/2021/3530297.

Karačić, A., Vojvodić, B. (2021) Abdominal self-stabbing: An uncommon type of sharp abdominal trauma *Case Reports in Emergency Medicine*, 2021, Article ID 9917040. doi:10.1155/2021/9917040.

IZLAGANJE NA MEĐUNARODNOM ZNANSTVENOM SKUPU

Ena Stefanov, Katja Radolović, Andrija Karačić, Blaženka Kos, Zvonimir Šatalić, Ana-Marija Liberati Pršo, Plamena Dikarlo, Isabel Dorst, Ira Renko „Sauerkraut Supplementation and the

Athlete Gut Microbiota: Preliminary Results of a Prospective Cohort Study“, Gut Microbiota for Health World Summit, Prag 11.-12.3/2023., Prag, Czech Republic. Abstract book, 22

Bruna Krneta, Andrija Karačić, Ira Renko, Ana-Marija Liberati Pršo, Plamena Dikarlo, Isabel Dorst „Prolonged Water-Fasting and The Gut Microbiota: Preliminary Results of an Observational Study“, Gut Microbiota for Health World Summit, Prag 11.-12.3/2023., Prag, Czech Republic. Abstract book, 23