

# Modulacija imunosnog sustava putem kratkolančanih masnih kiselina

---

**Kralj-Vrsalović, Paula**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2021**

*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:159:043327>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-04**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Paula Kralj Vrsalović**

7289/N

**MODULACIJA IMUNOSNOG SUSTAVA PUTEM  
KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Imunologija za nutricioniste

**Mentor:** izv. prof. dr.sc. Lidija Šver

**Zagreb, 2021.**

**Sveučilište u Zagrebu**

**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Zavod za biokemijsko inženjerstvo**

**Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama**

### **Modulacija imunskog sustava putem kratkolančanih masnih kiselina**

Paula Kralj-Vrsalović, 0058209629

**Sažetak:** Kratkolančane masne kiseline (SCFA) nastaju bakterijskom fermentacijom neprobavljivih komponenata hrane u gastrointestinalnom traktu. Najzastupljenije bakterije koje proizvode kratkolančane masne kiseline su iz odjeljaka Bacteroidetes i Firmicutes. Kratkolančane masne kiseline predstavljaju poveznicu između crijevne mikrobiote i imunskog sustava. Imaju bitnu ulogu u održavanju crijevne homeostaze i izvor su energije intestinalnim epitelnim stanicama. Kratkolančane masne kiseline djeluju na dva načina, aktivacijom G proteinskih receptora i inhibicijom histonske deacetilaze. Imaju protuupalni i antimikrobni učinak. Ovaj rad daje pregled utjecaja kratkolančanih masnih kiselina na različite komponente imunskog sustava i mehanizame kojima se postiže imunomodulacijski učinak.

**Ključne riječi:** kratkolančane masne kiseline, imunomodulacija, crijevna mikrobiota, imunski sustav

**Rad sadrži:** 27 stranica, 6 slika, 1 tablica, 61 literaturni navod, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *Izv. prof. dr.sc. Lidija Šver*

**Rad predan:** rujan, 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Nutrition

Department of Department of Biochemical Engineering

Laboratory for Biology and Microbial Genetics

### Immunomodulating activity of short-chain fatty acids

Paula Kralj-Vrsalović, 0058209629

**Abstract:** Short-chain fatty acids (SCFA) are produced by bacterial fermentation of indigestible food components in the gastrointestinal tract. The two most common phyla of short-chain fatty acids producing bacteria are Bacteroidetes and Firmicutes. Short-chain fatty acids are the link between the intestinal microbiota and the immune system. They play an essential role in maintaining intestinal homeostasis and are a source of energy to intestinal epithelial cells. Short-chain fatty acids act in two ways, by activating G protein receptors and by inhibiting histone deacetylases. They have anti-inflammatory and antimicrobial effect. This paper provides an overview of the influence of short-chain fatty acids on various components of the immune system and the mechanisms by which the immunomodulatory effect is achieved.

**Keywords:** short chain fatty acids immunomodulation gut microbiome immune system

**Thesis contains:** 27 pages, 6 figures, 1 tables, 61 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** dr.sc. *Lidija Šver*, Associate Professor

**Thesis delivered:** September, 2021

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1. KRATKOLANČANE MASNE KISELINE .....	2
2.1.1. KRATKOLANČANE MASNE KISELINE I NJIHOVO PODRIJETLO U ORGANIZMU .....	2
2.1.2. PROIZVODNJA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA.....	3
2.1.3. FAKTORI KOJI UTJEČU NA PROIZVODNJU KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA .....	5
2.1.4. TRANSPORT KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA.....	6
2.2. CRIJEVNA MIKROBIOTA .....	7
2.2.1. CRIJEVNA DISBIOZA.....	8
2.3. MODULACIJA IMUNOSNOG SUSTAVA PUTEM KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA .....	8
2.3.1. IMUNOSNI SUSTAV I NJEGOVA ORGANIZACIJA .....	8
2.3.2. MEHANIZMI IMUNOMODULACIJE KRATKOLANČANIM MASNIM KISELINAMA.....	9
2.3.2.1. INHIBICIJA HDAC AKTIVNOSTI .....	9
2.3.2.2. S G-PROTEINOM SPREGNUTI RECEPTORI I NJIHOVI SIGNALNI PUTEVI ...	10
2.3.3. UTJECAJ SCFA NA UROĐENU IMUNOST.....	11
2.3.3.1. CRIJEVNI EPITEL.....	11
2.3.3.2. PROTEINI ČVRSTOG MEĐUSTANIČNOG SPOJA.....	12
2.3.3.3. NEUTROFILI .....	13
2.3.3.4. MONOCITI I MAKROFAGI .....	13
2.3.3.5. DENDRITIČKE STANICE .....	15
2.3.4. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA U STEČENOJ IMUNOSTI.....	15
2.4. POTENCIJALNI TERAPIJSKI UČINCI KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA.....	16
2.4.1. NAČINI PRIMJENE SCFA U TERAPIJSKE SVRHE .....	17
2.4.2. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA KOD UPALNIH BOLESTI CRIJEVA .....	18
2.4.3. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA U PRETILOSTI.....	19
2.4.4. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA U BOLESTI RAKA DEBELOG CRIJEVA .....	20
3. ZAKLJUČAK .....	21
4. LITERATURA .....	22

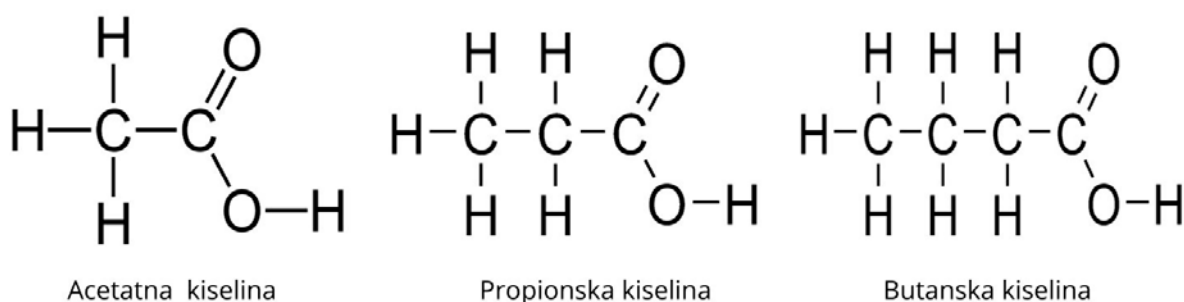
# 1. UVOD

Imunosni sustav je tjelesni sustav sačinjen od organa i tkiva kojima je svrha zaštita organizma od napada stranih mikroorganizama, njihovih metabolita te vlastitih izmijenjenih stanica. Komponente prehrane mogu djelovati modulacijski na imunski sustav pojačavajući imunski odgovor. Kratkolančane masne kiseline (SCFA; prema engl. *short-chain fatty acid*) su proizvodi bakterijske fermentacije vlakana u crijevima. Izvor su energije intestinalnim epitelnim stanicama te moduliraju različite procese u gastrointestinalnom traktu i tkivima kao što su adipozno tkivo i tkiva imunskog sustava. Kratkolančane masne kiseline su poveznica između crijevne mikrobiote i imunskog sustava. SCFA moduliraju imunski sustav na dva načina, putem s G proteinom spregnutih receptora FFAR2, FFAR3, GPR109a i Olfr78 te putem inhibicije histonskih deacetilaza. SCFA utječu na kemotaksiju, fagocitozu, diferencijaciju stanica, djeluju antimikrobno i protuupalno te utječu na integritet crijevnog epitela. SCFA imaju bitnu ulogu u održavanju crijevne homeostaze te su promjene u tom sustavu povezane s razvojem upalnih bolesti crijeva, pretilosti i drugih patoloških stanja. U ovom radu objašnjeni su mehanizmi proizvodnje SCFA u gastrointestinalnom traktu, mehanizmi djelovanja na stanice imunskog sustava i uloga SCFA u bolesti kao što su upalne bolesti crijeva i rak debelog crijeva. Navedeni su i potencijalni načini primjene SCFA kao terapeutika.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. KRATKOLANČANE MASNE KISELINE

Kratkolančane masne kiseline (SCFA; prema engl. *short-chain fatty acid*) su produkti anaerobne bakterijske fermentacije u crijevima. To su karboksilne kiseline koje u svojoj strukturi sadrže alifatski rep s manje od 6 ugljikovih atoma. Najzastupljenije i najistraživanije su octena (acetatna), propionska i maslačna (butanska) kiselina (Slika 1). U najvećoj koncentraciji se nalaze u debelom crijevu, gdje su prisutne u obliku aniona i gdje ih kolonociti koriste kao izvor energije ili se apsorbiraju iz crijevnog lumena u krvotok.



**Slika 1.** Prikaz octene, propionske i maslačne kiseline (Adom i Nie, 2013)

#### 2.1.1. KRATKOLANČANE MASNE KISELINE I NJIHOVO PODRIJETLO U ORGANIZMU

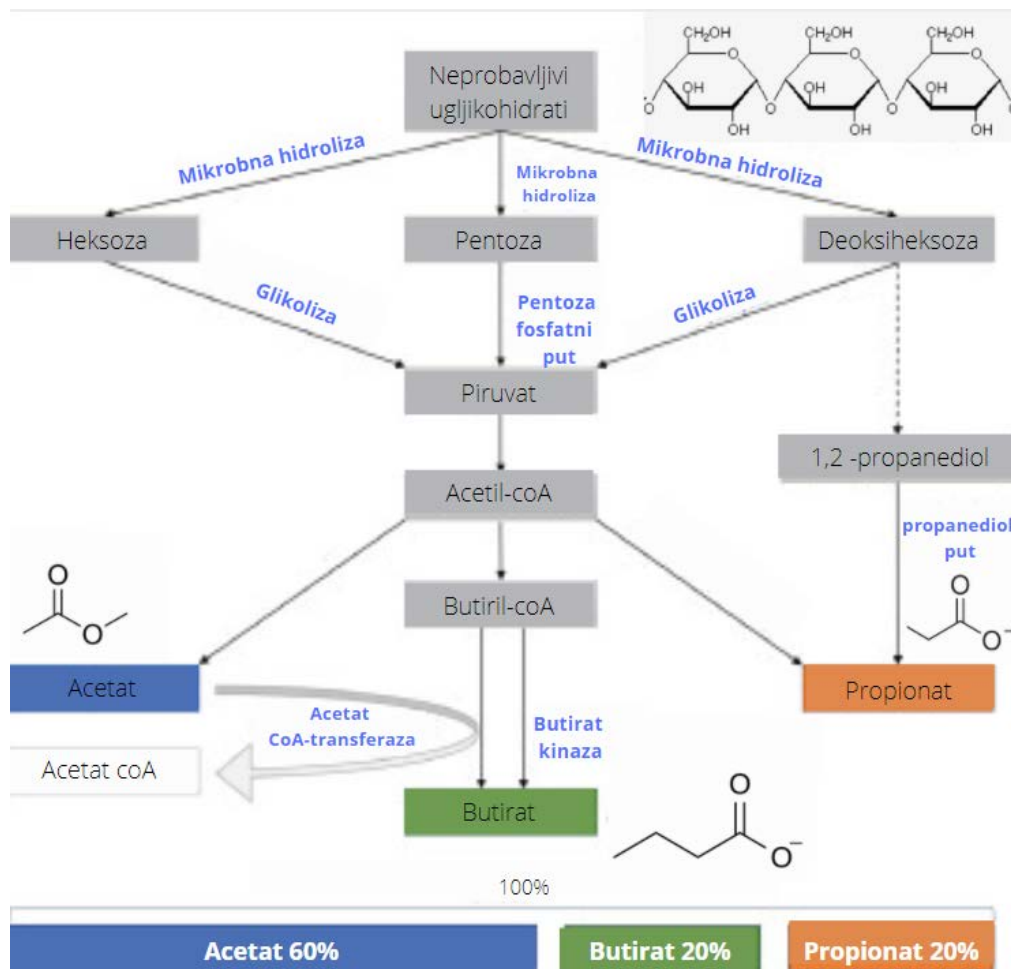
Kratkolančane kiseline se mogu unijeti u organizam hranom ili proizvesti u lumenu crijeva fermentacijom neprobavljivih ugljikohidrata komenzalnim bakterijama u svrhu dobivanja energije. Hrana koja sadrži SCFA je pretežito hrana čiji proces proizvodnje uključuje fermentaciju poput sireva, jogurta, ukiseljenog povrća i soja umaka. Proizvodnja u crijevima čini glavni udio u ukupnoj količini SCFA, što ilustrira činjenica da su crijevima sterilnih miševa primijećene vrlo niske koncentracije SCFA u usporedbi sa crijevima miševa u kojima su naseljeni komenzalni organizmi (Høverstad i Midvedt, 1986). Neprobavljivi ugljikohidrati, odnosno ugljikohidrati koji dopiju u debelo crijevo bez da se hidroliziraju i apsorbiraju u tankom crijevu nazivaju se vlakna. Vlakna su širok termin koji uključuje raznolike neprobavljive polimere, najčešće ugljikohidrate s različitim fiziološkim i funkcionalnim svojstvima. Neka od tih svojstava su topljivost u vodi i prebiotička svojstva. Nisu sva vlakna u jednakoj mjeri podložna bakterijskoj fermentaciji u crijevima. Vlakna koja fermentiraju u manjoj mjeri mogu imati ulogu u povećanju fekalne mase i u peristalici crijeva. Fermentaciji podliježe na probavu rezistentni škrob, pektin, oligosaharidi i guar guma. Rezistentni škrob je tip škroba koji zbog

većeg udjela amiloze otporan na razgradnju enzimima čovjeka u tankom crijevu te neprobavljen podliježe fermentaciji u debelom crijevu. Najznačajniji izvor SCFA je fermentacija rezistentnog škroba, iako su neapsorbirani ugljikohidrati polidekstroza, rafinoza i modificirana celuloza također supstrati za fermentaciju u kolonu. Netopljiva vlakna poput lignina su otpornija na fermentaciju, ali na sebe vežu vodu i povećavaju volumen stolice te potiču crijevnu peristaltiku. Topljiva vlakna poput pektina i guar gume potpuno fermentiraju u crijevima i nemaju značajnog utjecaja na volumen stolice. Većina istraživanja koja mjere koncentraciju SCFA nakon nutritivne intervencije mjere koncentraciju u uzorcima fecesa.

### **2.1.2. PROIZVODNJA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA**

Crijevna mikrobiota je najbrojnija zajednica mikroorganizama prisutna u ljudskom tijelu. Dva najzastupljenija odjeljka su Bacteroidetes i Firmicutes, zatim slijede Actinobacteria, Proteobacteria i Verrucomicrobia. U crijevima prevladavaju anaerobni uvjeti. Ugljikohidrati su fermentirani pretežito u proksimalnom kolonu gdje se razlažu na monosaharide putem Embden-Meyerhofovog metaboličkog puta do fosfoenolpiruvata. Fosfoenolpiruvat se može prevesti do kratkolančanih masnih kiselina putem nekoliko različitih reakcija (Slika 2, Tablica 1). Proizvodnja acetata je široko zastupljena kod bakterijskih rodova prisutnih u crijevima, dok je proizvodnja butirata i propionata specifičnija. Propionat se proizvodi putem sukcinatnog, akrilatnog ili propandiolnog metaboličkog puta. Istraživanja su pokazala da je sukcinatni metabolički put najčešći način proizvodnje. Butirat nastaje kondenzacijom dvije molekule acetil-CoA koju katalizira butirat kinaza ili acetat-CoA transferaza. Butirat najviše proizvode Gram-pozitivne bakterije odjeljka Firmicutes. Iako većina bakterijskih vrsta podjednako sintetizira propionat i butirat, neke vrste poput bakterija iz porodice Lachnospiraceae pokazuju preferenciju ovisno o prisutnom supstratu (Reichardt i sur., 2014). Osim spomenutih načina, postoji još mnogo sporednih mehanizama kojima bakterije mogu proizvesti kratkolančane masne kiseline, budući da neke bakterije preferiraju metaboličke međuprodukte kao izvore energije poput sukcinata, etanola, formata i laktata koji se onda putem mnogobrojnih metaboličkih puteva mogu prevesti do krajnjih produkata koji uključuju i SCFA. Neki pripadnici domene *Archaea* mogu ugljikov dioksid prevesti do metana ili do acetata. Nakon nastanka, kratkolančane masne kiseline se gotovo u potpunosti apsorbiraju u kolonocitima u krv te putem jetrene portalne vene u jetru. Samo 5 – 10 % SCFA se izluči van putem fecesa. Zbog toga koncentracije SCFA u fecesu mogu služiti kao parametar za određivanje *in vivo* proizvodnje u crijevima (Boets i sur., 2015).





**Slika 2.** Mehanizmi proizvodnje SCFA (Deleu i sur., 2021).

**Tablica 1.** Sažetak glavnih bakterijskih proizvođača SCFA i njihovih fizioloških učinaka u normalnim stanicama (Fernandez i sur., 2016)

SCFA	Bakterija proizvođač	Fiziološki učinci
<b>acetat</b>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	Izvor energije za stanice crijeva Biosinteza kolesterola
<b>propionat</b>	<i>Roseburia insulinovorans</i> <i>Veillonella</i> spp. <i>Ruminococcus obeum</i> <i>Bacteroides</i> spp. <i>Dialister</i> spp. <i>Phascolarctobacterium</i> spp.	Izvor energije za stanice crijeva Glukoneogeneza Inhibicija biosinteze kolesterola Inhibicija histonskih deacetilaza (HDAC)
<b>butirat</b>	<i>Roseburia</i> spp.	Izvor energije za stanice crijeva

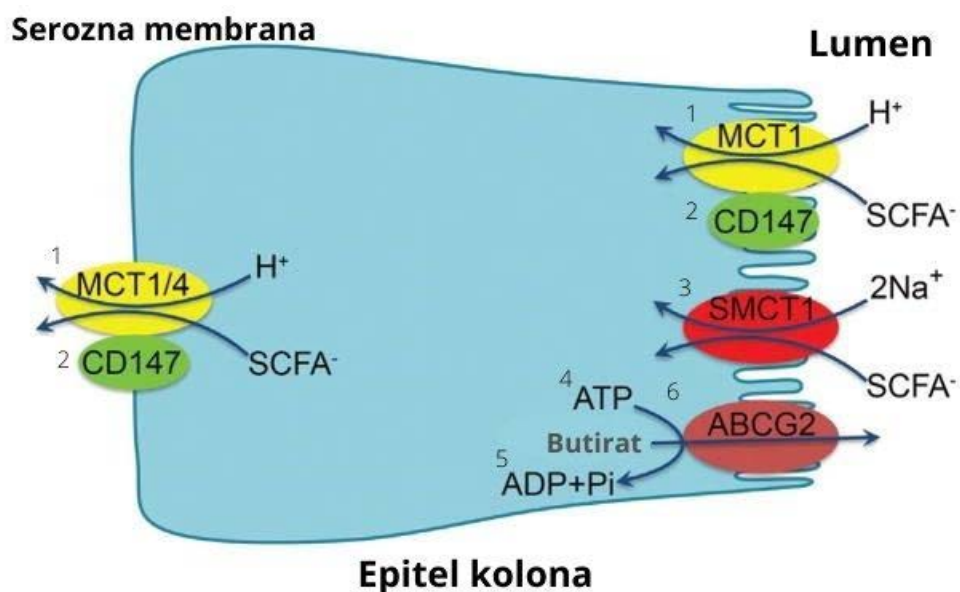
<i>Eubacterium rectale</i>	Protuupalno djelovanje
<i>Eubacterium hallii</i>	Indukcija imunosupresivnih citokina
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Indukcija imunosupresivnog glukagonu sličnog peptida 2 (GLP-2)
<i>Anaerostipes caccae</i>	Inhibicija histonskih deacetilaza (HDAC) u tumorskim stanicama
<i>Coprococcus eutactus</i>	Poticanje apoptoze u tumorskim stanicama
	Prekomjerna ekspresija enzima za detoksikaciju
	Održavanje funkcije mukozne barijere

### 2.1.3. FAKTORI KOJI UTJEČU NA PROIZVODNJU KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA

Neprobavljivi ugljikohidrati koji su sirovina za proizvodnju SCFA snižavaju pH vrijednost u kolonu što ima utjecaja na prisutne mikroorganizme i posljedično na proizvodnju SCFA. Većina SCFA se apsorbira u proksimalnom kolonu putem aktivnog transporta kojim u kolon dolazi bikarbonat koji neutralizira nastale kiseline. *In vitro* istraživanja pokazuju da bakterije iz odjeljka Bacteroidetes stagniraju u rastu pri uvjetima nižeg pH (Walker i sur., 2005). Za razliku od bakterija iz odjeljka Bacteroidetes, bakterije iz odjeljka Firmicutes, koje su među najvećim proizvođačima SCFA u crijevima, pokazuju veću toleranciju na niži pH lumena (Stumpff 2018). Niži pH ima ulogu u zaštiti organizma od pretjeranog rasta patogena koji su osjetljivi na promjene u pH vrijednosti. Osim pH, željezo je neophodno za funkcioniranje mikroorganizama i proizvodnju SCFA. Miševi s manjkom željeza u hrani imali su značajno manje koncentracije butirata i propionata u stolici od štakora hranjenih s normalnom koncentracijom željeza (Dostal i sur., 2012). Nedostatak željeza uzrokuje smanjenje proizvodnje butirata i ekspresije gena za butiril-CoA:acetat-CoA transferazu, enzima koji katalizira završni korak u sintezi butirata (Dostal i sur., 2015) što je pokazano na *in vitro* modelu kontinuirane fermentacije u ljudskom debelom crijevu PolyFermS. Plinovi prisutni u probavnom traktu također utječu na proizvodnju SCFA. Koncentracija kisika pretežno ovisi o vrstama mikroorganizama pa je različita na različitim dijelovima probavnog trakta. Mikroorganizmi koji koriste vodik za metaboličke procese mijenjaju parcijalni tlak vodika. Time se utječe na ravnotežu anaerobne fermentacije te shodno tome i na proizvodnju SCFA.

## 2.1.4. TRANSPORT KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA

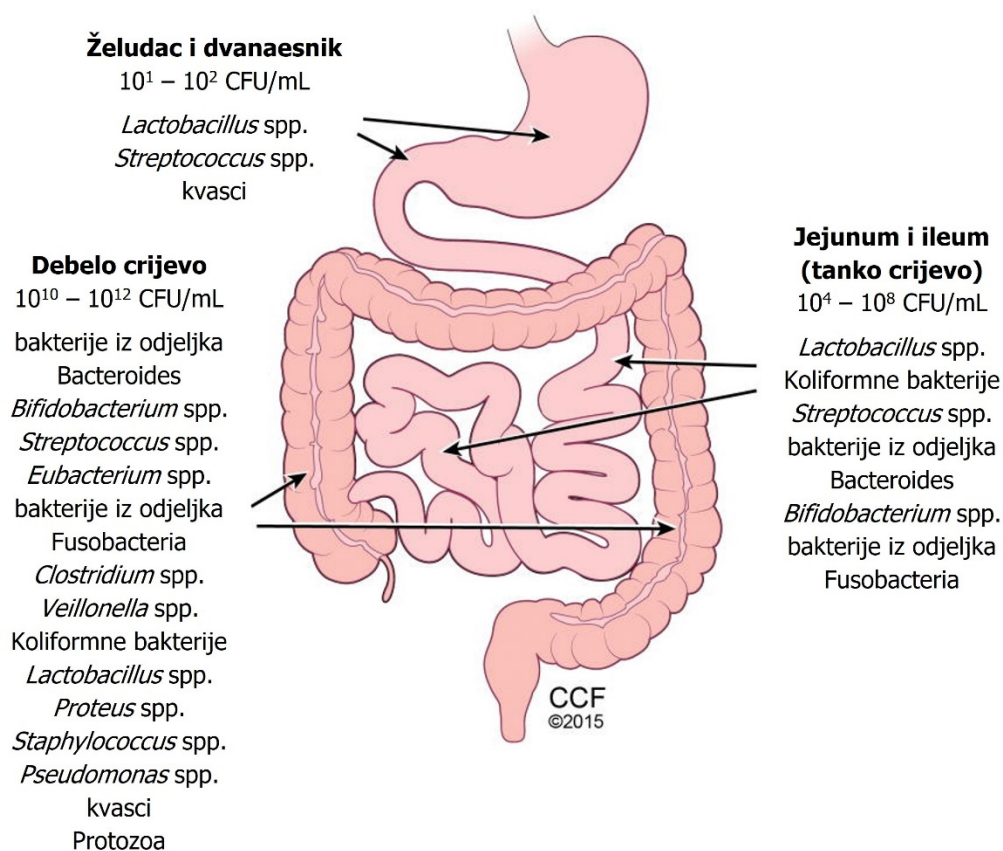
SCFA se apsorbiraju u lumen crijeva putem aktivnog i pasivnog transporta (Nakatani i sur., 2018). Način apsorpcije ovisi o pH lumena crijeva. Pri fiziološkom pH kratkolančane masne kiseline su pretežito u ioniziranom obliku. U protoniranom obliku u procesu olakšane difuzije prolaze kroz akvaporine u kolonocite. U ioniziranom obliku se apsorbiraju ionskim kotransportom. Monokarboksilatni transporter 1 spregnut s natrijem (SMCT 1; od engl. *sodium-coupled monocarboxylate transporter 1*) je vrsta transportera ovisna o ionima natrija koji prenosi ionizirane masne kiseline u debelom crijevu (Slika 3). Promjene u količini proizvedenih kratkolančanih masnih kiselina utječu na apsorpciju tekućine i elektrolita u lumenu crijeva. Monokarboksilatni transporter 1 (MCT; od engl. *monocarboxylate transporter 1*) je još jedna vrsta anionskih transportera pronađenih u apikalnoj membrani kolonocita. Kolonocitima su kratkolančane masne kiseline glavni izvor energije, 60 – 70 % ukupne energije dolazi iz njihove oksidacije (Clausen i Mortensen, 1995). Ukoliko se SCFA apsorbira u kolonu, portalnom venom će se transportirati u jetru. U jetri se SCFA koriste kao prekursori za druge molekule poput glukoze (propionat je prekursor za glukoneogenezu), ketone i masne kiseline. SCFA koje nisu iskorištene u metaboličkim reakcijama u jetri prenose se do skeletnih mišića, srca i mozga gdje se koriste kao izvor energije.



**Slika 3.** Prikaz transportera SCFA u epitelu kolona. MCT – monokarboksilatni transporter; CD147 – Basigin receptor; SMCT – monokarboksilatni transporter 1 spregnut s natrijem; ATP adenzin trifosfat; ADP + Pi – adenzin difosfat, pirofosfat; ABCG2 – protein G2 iz porodice ABC transportera (engl. *ATP-Binding Cassette Subfamily G Member 2*) (Sivaprakasam i sur., 2017).

## 2.2. CRIJEVNA MIKROBIOTA

Mikrobiota je ekološka zajednica komenzalnih, simbiotskih i patogenih mikroorganizama (Lederberg i McCray, 2001), dok je mikrobiom predstavljen cjelokupnim genom mikroorganizama u istoj ekološkoj niši (Berg i sur., 2020). Ljudski probavni trakt naseljava oko 100 trilijuna mikroorganizama (Bull i sur., 2014). Ljudski genom se sastoji od 23 000 gena, dok mikrobiom ima više od tri milijuna gena koji kodiraju za tisuće različitih metabolita. Sastav crijevne mikrobiote nije konstantan nego je podložan promjenama iz okoliša i na njega utječu razni faktori kao što su starost, prehrana, stres i komorbiditeti. Crijevna mikrobiota utječe na imunski sustav, metabolizam i neuroendokrini odgovor domaćina. Sastoji se od bakterija, virusa, gljivica i protozoa (Slika 4). Najbrojnije su bakterije, posebice iz odjeljaka Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, i Proteobacteria (Belizario i Napolitano, 2015). Odnos između domaćina i mikrobiote je simbiotski, gdje je probavni trakt izvor hranjivih tvari za rast i razvoj mikroorganizama dok oni štite domaćina od rasta patogenih bakterija, sudjeluju u metabolizmu domaćina i fermentaciji pojedinih ugljikohidrata. Produkti te fermentacije su i kratkolančane masne kiseline (SCFA) koji su gorivo za kolonocite, moduliraju imunski odgovor i poboljšavaju strukturalni integritet epitelne barijere.



**Slika 4.** Sastav crijevne mikrobiote. CFU – engl. *colony-forming units* (Cresci i Bawden, 2015)

## **2.2.1. CRIJEVNA DISBIOZA**

Neravnoteža između kolonija koje čine mikrobiom naziva se disbioza. To stanje izaziva imunosnu reakciju koja utječe na metabolizam domaćina i može imati ulogu u razvoju upalnih bolesti. Budući da raznovrsni mikroorganizmi stupaju u međusobne interakcije, postoje različiti tipovi disbioza. Jedan od uzročnika disbioze su simbiotske bakterije koje u normalnim uvjetima nemaju patogeni učinak, ali u promijenjenim okolišnim uvjetima mogu izazvati upalnu reakciju i u uvjetima upale dolazi do njihovog ubrzanog rasta. *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis* i *Fusobacterium nucleatum* su primjeri bakterija koji pod odgovarajućim uvjetima mogu biti patogene i uzrokovati crijevnu disbiozu (Ratajczak i sur., 2019). Drugi doprinositelj disbiozi je gubitak raznolikosti komenzalnih bakterija. Raznolikost mikrobiote oblikuje se od rođenja, a do promjena može doći zbog pojave bolesti, poremećaja metabolizma i načina prehrane. Još uvijek nije znanstveno potvrđeno da li je crijevna disbioza rezultat ili uzrok imunosnih i metaboličkih poremećaja. Narušavanje sastava i funkcije crijevne mikroflore se veže uz mnoge upalne bolesti poput Chronove bolesti, ulceroznog kolitisa, ateroskleroze, astme i artritisa. Metaboliti crijevnih bakterija također utječu na imunosni sustav i crijevnu mikrofloru domaćina. U procesu fermentacija egzogenih tvari, kao što su neprobavljivi ugljikohidrati iz hrane, stvaraju se kratkolančane masne kiseline. One moduliraju imunosni odgovor i utječu na integritet mukozne membrane. Crijevna mukozna membrana je sačinjena od sloja sluznice, epitela i lamine proprije, stanica urođene i stečene imunosti koje sudjeluju u homeostatskom odgovoru na prisutne mikroorganizme bez uzrokovanja upale. Ukoliko je barijera oštećena, stanice urođene i stečene imunosti potiču popravak tkiva i uklanjanje mikroorganizama.

## **2.3. MODULACIJA IMUNOSNOG SUSTAVA PUTEM KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA**

### **2.3.1. IMUNOSNI SUSTAV I NJEGOVA ORGANIZACIJA**

Imunost je sposobnost organizma da se odupire potencijalnom štetnom djelovanju stranih tvari (antigena). Kako ti antigeni nisu lokalizirana prijetnja, imunosni sustav je raspoređen po cijelom organizmu. Funkcija imunosnog sustava je zaštita organizma od infekcija i bolesti općenito. Imunost se dijeli na urođenu (nespecifičnu) i stečenu (specifičnu). Nespecifična imunost je aktivna bez prethodnog kontakta s patogenom i nije usmjerena prema specifičnom antigenu za razliku od specifične imunosti koja ima sposobnost prepoznavanja i reakcije na specifični antigen. Tkiva i organi imunosnog sustava dijele se na primarne i periferne. Koštana srž i timus pripadaju primarnim organima. U njima dozrijevaju limfociti koji

zatim putem cirkulacije dolaze do perifernih tkiva i organa. Periferni organi su slezena, limfni čvorovi, krajnici (tonzile) te limfno tkivo pridruženo sluznicama spolno-mokraćnog, probavnog i dišnog sustava. Stanice imunskog sustava se dijele na stanice urođene imunosti kao što su prirodnoubilačke stanice (engl. *natural killer cells*; NK), fagociti (makrofagi, eozinofili, neutrofilii). Stanice specifične imunosti su primarno limfociti T i B specifični za određene antigene.

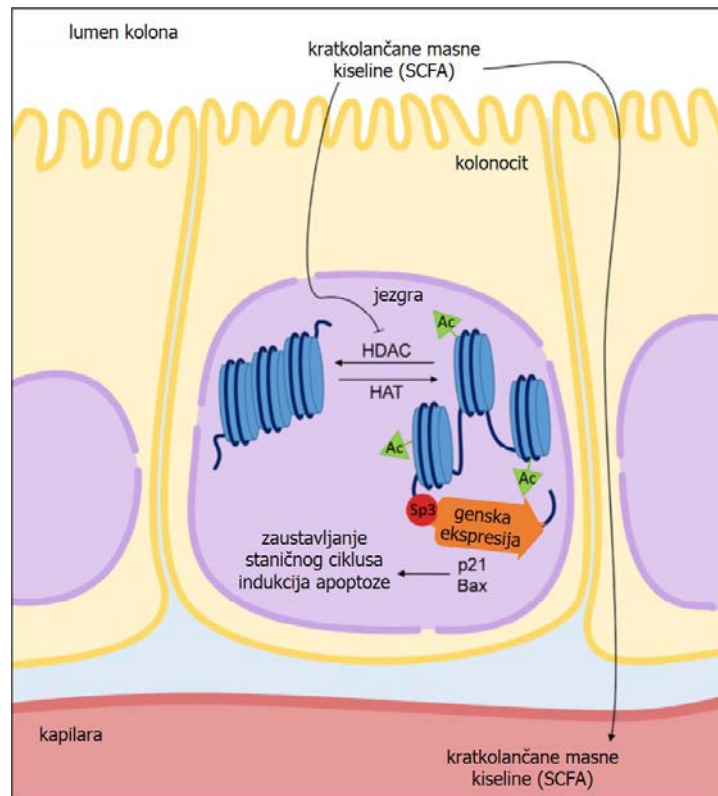
### **2.3.2. MEHANIZMI IMUNOMODULACIJE KRATKOLANČANIM MASNIM KISELINAMA**

Ustanovljena su dva mehanizma putem kojih SCFA utječu na funkciju stanica, aktivacijom G proteinskih receptora i inhibicijom enzima histonskih deacetilaza (HDAC; od engl. *histone deacetylases*).

#### **2.3.2.1. INHIBICIJA HDAC AKTIVNOSTI**

Eukariotski genom je kondenziran u jezgri stanice pomoću bjelančevina histona. Modifikacije histona, kao što su acetilacija lizina i fosforilacija serina, utječu na ekspresiju određenih gena. Kratkolančane masne kiseline inhibiraju HDAC enzime koji se nalaze u jezgri i čija je uloga kontrola stupnja acetilacije histona. Lizinski aminokiselinski ostaci repne domene histona su pri fiziološkim uvjetima pozitivno nabijeni što omogućava stvaranje ionske veze s negativno nabijenim fosfatnim skupinama u okosnici DNA. Ionske veze između histona i DNA čine kromatin kondenziranim i transkripcijski neaktivnim. Reakcija acetilacije katalizirana enzimima histonskim acetil-transferazama (HAT; od engl. *histone acetyltransferases*) neutralizira pozitivan naboj lizina, dolazi do pucanja ionskih veza, struktura kromatina postaje dekonenzirana i podložna transkripciji. Stupanj kondenzacije kromatina utječe na dostupnost DNA transkripcijskim enzimima što se očituje u genskoj ekspresiji. HDAC enzimi kataliziraju reakciju suprotnu HAT enzimima, hidrolizu acetilne skupine bočnog ogranka L-lizina. Inhibitori HDAC, u ovom slučaju kratkolančane masne kiseline, blokiraju deacetilaciju histona što dovodi do zaustavljanja staničnog ciklusa i proliferacije, te do apoptoze (Slika 5). SCFA uzrokuju zaustavljanje staničnog ciklusa putem povećane ekspresije gena *CDKN1A*, koji kodira za protein p21 (Poje i Rajić, 2020). Protein p21 sprječava stvaranje dimera iz ciklina i ciklin-ovisne kinaze koji je neophodan za napredovanje stanice kroz G<sub>1</sub> kontrolnu točku staničnog ciklusa. SCFA uzrokuju apoptozu stanice pomoću povećane ekspresije proapoptotičkih gena i utišavanjem gena suprotnog (apoptotičkog) učinka. Dolazi do povećanja broja receptora smrti poput TRAIL, DRS i Fas te se pojačano luče i njihovi ligandi. Vezanjem liganada dolazi do

aktivacije receptora i prijenosa apoptotičkog signala do enzima kaspaza koje vrše apoptozu. Kratkolančane masne kiseline uzrokuju i pojačanu ekspresiju proteina BAX (Slika 5) koji nakon primanja apoptotičkog signala mijenja konformaciju i stvara poru u vanjskoj membrani mitohondrija što dovodi do oslobađanja proapoptotičkih faktora koji aktiviraju kaspazu.



**Slika 5.** Utjecaj SCFA na stanični ciklus kolonocita. HDAC – histonska deacetilaza; HAT – histonska acetiltransferaza; AC – acetilna skupina; Sp3 – Sp3 transkripcijski čimbenik; p21 – inhibitor ciklin-ovisne kinaze 1; Bax – X protein povezan s Bcl-2 , protein regulator apoptoze (Fernandes i sur., 2016)

### ***2.3.2.2. S G-PROTEINOM SPREGNUTI RECEPTORI I NJIHOVI SIGNALNI PUTEVI***

Drugi način prijenosa signala je putem receptora spregnutih s G-proteinom na staničnim membranama koje se SCFA vežu. To su polipeptidi sastavljeni od sedam transmembranskih domena u obliku alfa uzvojnica. U ljudskom organizmu postoje četiri otkrivena s G-proteinom spregnuta receptora (GPR; od engl. *G protein-coupled receptors*) za SCFA: i) GPR109A koji se naziva i receptor hidrokisarboksilne kiseline 2, HCAR<sub>2</sub>, prema engl. *hydroxycarboxylic acid receptor 2*), ii) GPR43 kojeg aktiviraju slobodne masne kiseline srednjeg do dugog lanca pa se još naziva receptor slobodnih masnih kiselina 2 (FFAR 2; prema engl. *free fatty acid receptor 2*), iii) GPR41 (noviji naziv FFAR 3) (Tolhurst i sur., 2012) i 4) olfaktorni

receptor OR51E2 (Pluznick, 2014). Nedavno je otkriveno da su SCFA ligandi za receptor aromatskih ugljikovodika (Rosser i sur., 2020). GPR43 je najčešće aktiviran propionatom, acetatom i butiratom dok je GPR41 najčešće stimuliran butiratom i propionatom. Butirat i betahidroksibutirat su, uz niacin i ketonska tijela, ligandi za GPR109A receptor. Propionska i octena kiselina proizvedene bakterijskom fermentacijom su ligandi olfaktornog receptora Olfr78 u miševa. GPR41 je nađen u lamini propriji debelog crijeva, slezeni, koštanoj srži, limfnim čvorovima i u perifernom živčanom sustavu. Glavna mjesta ekspresije GPR43 su epitelne stanice probavnog trakta i stanice imunskog sustava (D'Souza i sur., 2017). GPR43 se nalazi u adipocitima, stanicama masnog tkiva, te enteroendokrinim stanicama crijeva. GPR109A se nalazi u stanicama imunskog sustava poput makrofaga, monocita, dendritičkih stanica i neutrofila.

Vežanje liganda i aktivacija receptora započinje kaskadu reakcija u stanici. U slučaju s G-proteinom spregnutih receptora, prvi signal proizlazi iz stimuliranja heterotrimeru G proteina koji se sastoji od alfa, beta i gama podjedinice. U stanju mirovanja, alfa, beta i gama podjedinice su međusobno spojene. Aktivnost G proteina je regulirana vežanjem gvanozin difosfata na alfa podjedinice, za koje postoje 4 podklase:  $G\alpha(s)$ ,  $G\alpha(i/o)$ ,  $G\alpha(q/11)$  i  $G\alpha(12/13)$ . Stimuliranjem svake od te četiri podklase se aktivira drugačiji signalni put u stanici. Nakon vežanja liganda na receptor, gvanozin difosfat disocira s alfa podjedinice i zatim veže gvanozin trifosfat. Kompleks alfa podjedinica-GTP disocira od beta i gama podjedinice. Kompleks alfa-podjedinica-GTP i beta-gama podjedinica zatim prenose signal unutar stanice na ciljanu molekulu koja je najčešće ionski kanal ili adenilil ciklaza. GPR43 i GPR41 receptori sadrže  $G\alpha(i/o)$  i  $G\alpha(q/11)$  subklase G proteina (Milligan i sur., 2017). Prijenos signala iz FFAR2 receptora (GPR43) ima ulogu u modulaciji upalnog odgovora. *In vitro* istraživanja na ljudskim monocitima pokazuju da receptori FFAR2 i FFAR 3 u interakciji sa SCFA tvore heteromer koji aktivira signalni put s proteinom p38, koji se povezuje s razvojem imunskih oboljenja (Cheng i sur., 2018). FFAR receptori na koji je vezana propionska kiselina imaju ulogu u aktivnosti simpatičkog živčanog sustava (Kimura i sur., 2011).

### **2.3.3. UTJECAJ SCFA NA UROĐENU IMUNOST**

#### ***2.3.3.1. CRIJEVNI EPITEL***

Epitelni sloj stanica sluznice je komponenta urođene imunosti. Pokriva površine spojnice oka, dišnog, mokraćno-spolnog i probavnog sustava. Temelj ovog mehanizma nespecifične, urođene obrane je fizički kontinuitet organa koji oblaže unutarnje površine. Osim fizičke barijere, sudjeluju u prepoznavanju patogenih organizama i njihovih metabolita. U



kontekstu kratkolančanih kiselina najbitnije su intestinalne epitelne stanice (IEC stanice). Te stanice su izvor mucina, antimikrobnih peptida, citokina i kemokina koji se izlučuju u lumen crijeva. Citokini kemokini su medijatori imunskog odgovora koji reguliraju diferencijaciju i aktivaciju stanica imunskog sustava. U crijevima je nađena visoka koncentracija kratkolančanih masnih kiselina koje dolaze u kontakt s IEC. U stanice se SCFA apsorbiraju pasivnom difuzijom i aktivnim transportom putem monokarboksilatnog transportera spregnutog s ionom vodika (engl. *monocarboxylate transporter 1*; MCT1) ili monokarboksilatnog transportera 1 koji je spregnut s natrijem (SMCT1) (Slika 3). IEC stanice većinu apsorbiranog butirata koriste kao izvor energije u obliku ATP-a, dok se propionat i acetat prenose do jetre. Butirat ima ulogu u homeostazi IEC stanica jer potiče kako proliferaciju, tako i apoptozu kolonocita. Učinak butirata na proliferaciju IEC stanica je najveći u lumenu jer je tamo prisutna njegova najveća koncentracija (Corrêa- Oliveira i sur., 2016). Osim toga, potiče eksfolijaciju stanica i time doprinosi regeneraciji stanica. Zabilježen je i učinak butirata na obranu od patogena u epitelu probavnog sustava tako što pospješuje ekspresiju antimikrobnih peptida LL-38 i CAP-18 u epitelnim stanicama zečeva i ljudi (Raqib i sur., 2006). Drugo istraživanje na epitelnim stanicama svinja je pokazalo da butirat utječe na ekspresiju antimikrobnih peptida defenzina i katelicidina LL-37. Potpun mehanizam navedenih učinaka nije poznat, ali se pripisuje inhibiciji HDAC enzima odnosno modificiranju transkripcije gena koji kodiraju za antimikrobne peptide.

### **2.3.3.2. PROTEINI ČVRSTOG MEĐUSTANIČNOG SPOJA**

Proteini čvrstog međustaničnog spoja ili *zonula occludens* proteini (engl. *tight junction*; TJ) su proteini koji se nalaze na spojevima endotelnih i epitelnih stanica. Reguliraju transport otopljenih tvari i signalnih molekula koje potiču diferencijaciju i polarizaciju stanica. SCFA indirektno utječu na TJ proteine putem moduliranja citokina. Upalni citokini interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) i čimbenik tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ; engl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ) povećavaju propusnost staničnih spojeva putem TJ proteina. Supresijom upalnih citokina, SCFA sprječavaju poremećaje u propusnosti stanica. Aktiviranjem receptora GPR109A butirat suzbija povećanje stanične propusnosti na mišjem modelu ulceroznog kolitisa (Cheng i sur., 2018). SCFA direktno utječu na formiranje TJ proteina u epitelnih stanica, aktiviranje GPR109A povećava ekspresiju proteina kladina-3, okcludina i zonula occludens 1, komponenti čvrstog međustaničnog spoja (Feng i sur., 2018). Na stvaranje TJ proteina najviše utječe metabolizam, pogotovo povećane endogene koncentracije kalcijevih iona uslijed aktivacije enzima AMP-aktivirane protein kinaze. Butirat regulira aktivnost tog enzima i time poboljšava funkciju crijevne epitelne barijere (Peng i sur., 2009).

### **2.3.3.3. NEUTROFILI**

Neutrofili (neutrofilni leukociti) su vrsta granuliranih leukocita koji nastaju i u potpunosti sazrijevaju u koštanoj srži. Uloga im je pronalazak antigena te fagocitoza patogenih organizama. Jezgra im je segmentirana te u citoplazmi sadrže dvije vrste zrnaca. Primarna (azurofilna) zrnca su lizosomi čija je funkcija digestija makromolekula pomoću enzima mijeloperoksidaze i kisele hidrolaze. Sekundarna zrnca se pojavljuju nakon primarnih i sadrže laktoferin, lizozim, alkalnu fosfatazu i baktericidne proteine. Neutrofili se spontano gibaju te se priljepljuju uz stijenke krvnih žila. Reagiraju i luče kemotaksične tvari koje stvaraju koncentracijski gradijent na koji stanice odgovaraju svojim kretanjem. Migracija neutrofila iz krvi na mjesto upale čini prvi korak organizma u upalnom odgovoru. Vežanje liganada na neutrofilne receptore kao što su receptor komplemenata 3 (CR3; engl. *complement receptor 3*) i Fc receptor  $\gamma$  (Fc $\gamma$ R) dovodi do fagocitoze uzročnika upale. Aktin, protein citoskeleta, polimerizira se kako bi nastala vezikula potrebna za fagocitozu, fagosom. Nakon formiranja fagosoma, aktiviraju se mehanizmi kojima dolazi do razgradnje patogenih organizama, proizvodnje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS), oksidiranih halida i oslobađanja enzima. Kompleks NADPH oksidaze katalizira redukciju molekularnog kisika u superoksidni anion koji se onda spontano ili uz pomoć enzima prevodi u toksične ROS spojeve koji se, uz antimikrobne proteine, oslobađaju iz granula i ubijaju uzročnike upale. SCFA se vežu kao ligandi na GPR43 receptore neutrofila. Rezultati *in vivo* i *in vitro* istraživanja pokazuju da SCFA na neutrofile djeluju kao kemoatraktivno sredstvo (Rodrigues i sur., 2016) Kratkolančane masne kiseline moduliraju proizvodnju ROS spojeva (reaktivnih spojeva kisika) što direktno ima utjecaj na sposobnost neutrofila da fagocitiraju patogene organizme. Rezultati istraživanja učinka SCFA na učinkovitost neutrofila daju oprečne rezultate, ovisno o kojoj kiselini se radi. Acetat u izoliranim neutrofilima iz ljudske koštane srži povećava koncentraciju ROS spojeva i pospješuje fagocitnu aktivnost neutrofila (Maslowski i sur., 2009). Butirat inhibira proizvodnju peroksida, superoksida i hipoklorične kiseline, taj učinak se objašnjava smanjenjem fosforilacije regulatorne podjedinice kompleksa NADPH oksidaze u neutrofilu. Zbog smanjenja fosforilacije dolazi jer SCFA povećavaju aktivnost enzima adenilat ciklaze i time se smanjuje proizvodnja ROS spojeva, odnosno butirat djeluje imunosupresijski na neutrofile (Vinolo i sur., 2009).

### **2.3.3.4. MONOCITI I MAKROFAGI**

Monociti se stvaraju u koštanoj srži iz preteča promonocita i za sazrijevanje su im potrebni citokini. Monociti u krvotoku borave nekoliko dana pa odlaze u tkiva gdje se preoblikuju u infiltrirajuće makrofage. Makrofagi mogu biti slobodne (cirkulirajuće) i fiksne

(rezidentne) stanice. Makrofagi koji su fiksni nalaze se u različitim tkivima i postoji njihov naziv u svakom tkivu: mikroglijalne stanice u mozgu, alveolarni makrofagi u plućima, Kupfferove stanice u jetri i dr. Funkcije makrofaga uključuju kemotaksiju, fagocitozu i liziranje mikroorganizama. Predočuju antigene limfocitima T te luče citokine interleukine IL-1, IL-6, IL-8 i IL-12 i prostaglandine. Kao i ostali fiksni makrofagi, intestinalni makrofagi nastaju tijekom embrionalnog razvoja ali se za razliku od drugih fiksnih makrofaga tijekom života zamjenjuju monocitima iz krvi koji se lokalno diferenciraju u protuupalne makrofage (Bain i sur., 2009). Ti cirkulirajući monociti završnoj diferencijaciji podliježu u lamini propriji. Zreli intestinalni fagociti imaju sposobnost fagocitoze i baktericidnog djelovanja putem aktivnosti NADPH-oksidadom deriviranih ROS spojeva, antimikrobnih peptida i proteina. Prisutnost SCFA djeluje protuupalno jer regulira proizvodnju prostaglandina i citokina u ljudskim monocitima (Cox i sur., 2009). Izolirani humani CD14<sup>+</sup> monociti koji su inkubirani u prisustvu butirata pokazali su bolji učinak na smrtnost Gram-negativnih bakterija *Salmonella enterica* i *Citrobacter rodentium* te Gram-pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus*. Kod makrofaga tretiranih butiratom zabilježena je manja stopa glikolize zbog veće koncentracije AMP-a, aktivatora AMPK kinaze koja pak inhibira ciljnu molekulu rampamicina (mTOR; od engl. *mechanistic target of rapamycin*). mTOR je serin / treonin kinaza koja regulira mnoge stanične procese poput rasta stanica, proliferacije stanica, sinteze proteina i centralni je regulator autofagije. Schulthess i suradnici (2019) istražili su da li je povećana antimikrobna aktivnost povezana s LC3 proteinom. LC3 protein ili mikrotubulima pridružen protein 1A/1B-laki lanac 3 je protein citoskeleta koji je specifični marker autofagije. Koncentracije LC3 su bile veće kod makrofaga tretiranih butiratom te je došlo do povećanja koncentracije ROS spojeva. Niska razina ROS spojeva potiče stanicu na rast i proliferaciju dok visoke koncentracije induciraju staničnu smrt. Prisutnost butirata povećala je antimikrobnu aktivnost intestinalnih makrofaga te se povećala otpornost prema patogenima (Schulthess i sur., 2019). Drugo istraživanje na makrofagima je pokazalo da butirat inhibira njihovu migraciju induciranu lipopolisaharidima (LPS) (Maa i sur., 2010). LPS je komponenta vanjske membrane Gram-negativnih bakterija i glavna joj je funkcija mehanička zaštita i održavanje strukturnog integriteta bakterije. LPS se veže za Toll-u slične receptore (TLR4; od engl. *Toll-like receptors*) na stanicama makrofaga. TLR su transmembranski proteini koji aktiviraju NF- $\kappa$ B, proteinski kompleks koji upravlja transkripcijom DNA i proizvodnjom citokina. Aktivacijom NF- $\kappa$ B posljedično dolazi do aktivacije proteina tirozin kinaze 2, enzima koji regulira stanično kretanje. Butirat smanjuje NF- $\kappa$ B aktivaciju i time ograničava motilitet stanice. Tretiranje intestinalnih makrofaga n-butiratom u miševima s ulceroznim kolitisom smanjilo je lučenje proupalnih posrednika induciranih LPS-om, poput dušičnog monoksida, IL-6 i IL-12, što je dovelo do smanjenog upalnog odgovora na korisne komenzalne bakterije (Chang i sur., 2014).

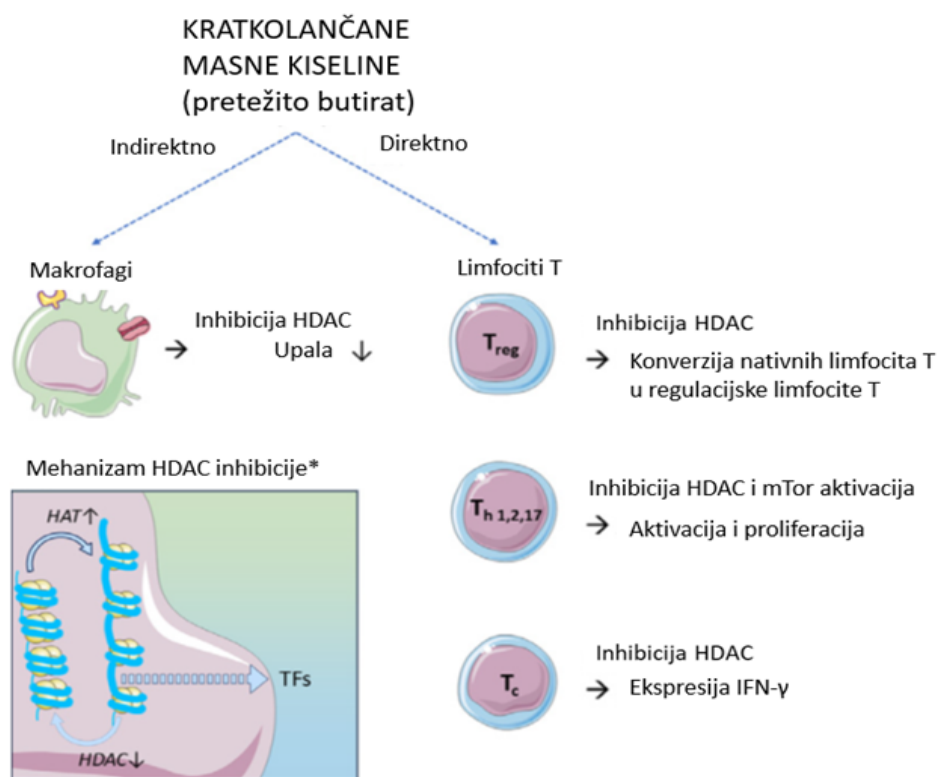
### **2.3.3.5.DENDRITIČKE STANICE**

Dendritičke stanice sadrže duge razgranate izdanke zbog kojih su i nazvane po grčkoj riječi za drvo, *dendron*. Stvaraju ih hematopoetske stanice u koštanoj srži pa se zatim diferenciraju u raznim tkivima i dijele na pet tipova; konvencionalne dendritičke stanice, dendritičke stanice monocitnog podrijetla, plazmocitoidne dendritičke stanice, intersticijske i Langerhansove dendritičke stanice. Imaju sposobnost predočavanja antigena. Nakon aktivacije migriraju u limfne organe gdje stupaju u interakciju s limfocitima B i T te potiču imunski odgovor. Istraživanja su pokazala da SCFA imaju utjecaja na diferencijaciju i funkciju dendritičkih stanica. Butirat i niacin signalizacijom putem receptora hidrokarboksilne kiseline 2 (GPCR109A) djeluju protuupalno na dendritičke stanice kolona koje sudjeluju u održavanju homeostaze. U istraživanju gdje su korištene dendritičke stanice monocitnog podrijetla, butirat i propionat su značajno smanjili izlučivanje citokina i ekspresiju kemokinskih gena (Nastasi i sur., 2015) U nekim istraživanjima protuupalni učinci kratkolančanih masnih kiselina pokazali su se neovisnima o receptorima, već su ovisili isključivo o inhibiciji histonskih deacetilaza (Chang i sur., 2014). Butirat odgađa sazrijevanje dendritičkih stanica tako što inhibira ekspresiju markera na površini stanica kao što su CD80, CD83 i molekule glavnog sustava tkivne podudarnosti (MHC; od engl. *major histocompatibility complex*) skupine dva koje su prisutne na površini zrelih dendritičkih stanica.

### **2.3.4. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA U STEČENOJ IMUNOSTI**

Limfociti imaju glavnu ulogu u obrani od mikroorganizama i suzbijanju upale u tkivima. Osnovne vrste limfocita su limfociti T, limfociti B i NK-stanice. Sazrijevanje limfocita T podrazumijeva primarnu i sekundarnu diferencijaciju. Kod primarne diferencijacije, preteča limfocita prolazi diferencijaciju u koštanoj srži, a zatim u timusu gdje na svojoj površini iskazuje potrebne receptore za prepoznavanje predočenog antigena. Takvi limfociti s iskazanim antigenskim receptorima su zrele imunokompetentne stanice, ali naivne jer nisu došli u interakciju s antigenom. Nakon kontakta s antigenom dolazi do sekundarne diferencijacije limfocita, odnosno limfociti proliferiraju i diferenciraju se u memorijske i izvršne stanice. Butirat inhibira proliferaciju limfocita T nakon stupanja u kontakt sa stimulansima poput konkavalina A i anti-CD3 protutijela (Cavaglieri i sur., 2003). Konkavalin A je lektin, protein koji veže ugljikohidrate i koristi se u istraživanjima jer potiče mitozu i aktivira limfocite T. Inkubacija limfocita s butiratom smanjuje proizvodnju interleukina-2, citokina koji potiče rast, diferencijaciju i preživljavanje T-limfocita. Interleukin-2 ima ulogu u imunskom odgovoru na

virusne infekcije, stanice tumora i autoimune bolesti. S druge strane, uočen je suprotni učinak na proizvodnju citokina IL-10 u limfocitima. IL-10 je imunosupresijski citokin koji smanjuje sekreciju drugih citokina, koči predočenje antigena limfocitima T te aktivaciju CD4<sup>+</sup> limfocita T (Joss i sur., 2000). SCFA utječu na regulacijske limfocite T, odnosno na subpopulaciju limfocita T koja potiskuje imunski odgovor te je zbog toga predmet mnogih istraživanja u svrhu moguće terapije imunskih poremećaja. Inhibicijsko djelovanje kratkolančanih masnih kiselina na HDAC je zaslužno za ovaj učinak (Slika 6). Butirat u *in vitro* i *in vivo* istraživanjima potiče stvaranje regulacijskih limfocita T, na primjer *Clostridium* spp. koja proizvodi butirat potiče generiranje regulacijskih limfocita T u mišjim stanicama kolona (Tao i sur., 2018).



**Slika 6.** Pregled učinaka kratkolančanih masnih kiselina na stečenu imunost. HDAC – histonska deacetilaza; HAT – histonska acetiltransferaza; mTor – ciljna molekula rampamicina; TF – transkripcijski faktor (Deleu i sur., 2021)

## 2.4. POTENCIJALNI TERAPIJSKI UČINCI KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA

Kratkolančane masne kiseline se istražuju kao potencijalna terapija za mnoge bolesti imunskog sustava. Protuupalni učinak je zabilježen kod upalnih bolesti crijeva, dijabetesa tipa

1, artritisa i raka debelog crijeva. Kako su istraživanja pretežito rađena na životinjskim modelima, potrebna su randomizirana istraživanja na ljudima koja bi potvrdila istovrsni učinak.

#### **2.4.1. NAČINI PRIMJENE SCFA U TERAPIJSKE SVRHE**

U istraživanjima se najčešće koriste fermentabilna vlakna poput inulina koja dižu koncentraciju SCFA u krvnoj plazmi 5 – 6 sati nakon unosa, dok se duljom konzumacijom do nekoliko tjedana povećava i koncentracija u fecesu. Količina vlakana u hrani bogatoj vlaknima koja se koristi kod mišjih modela ekvivalent je dnevnom unosu od 250 g kod ljudi, a kako je to količina skoro deset puta više od preporučenog dnevnog unosa, tako su razvijeni praktičniji načini za unos SCFA.

Tributirin je ester maslačne kiseline (butirata) i glicerola te se kao terapija unosi oralno. Prednost tributirina je relativno brzo povišenje koncentracije butirata u serumu u dozama od 200 mg/kg tributirina tri puta dnevno. Oslobođanje butirata u gornjem dijelu probavnog trakta dovelo bi do nepoželjnih senzorskih karakteristika pa se koriste mikrokapsule od cikličkog oligosaharida ciklodekstrina. Klinička istraživanja tributirina nisu brojna, količina tableta koje ispitanik treba uzimati da bi se postiglo povećanje u koncentraciji butirata je nepraktična i postoji velika varijacija između povišenja serumske koncentracije kod ispitanika (Donovan i sur. 2017).

Suplementacija u obliku visoko fermentabilnih vlakana kao što su guar guma i inulin povisuju serumsku koncentraciju SCFA 6 sati nakon unosa 20 – 30 grama suplementa. S obzirom na preporučeni unos vlakana, 20 – 30 grama je visoka doza, te su u kohortnim studijama zabilježene gastrointestinalne smetnje. Jedno od ograničenja kod korištenja vlakana kao dodataka prehrani u svrhu proizvodnje SCFA je velika varijabilnost u količini proizvedenih SCFA među ispitanicima (Gill i sur., 2018).

Esterifikacija rezistentnog škroba kratkolančanim masnim kiselinama štiti SCFA od njihova oslobođanja i apsorpcije u tankom crijevu. U ovom obliku SCFA se učinkovitije dovode do kolona u usporedbi s nemodificiranim škrobom (Annison i sur., 2003). Esterifikacija inulina propionatom donosi istu količinu propionata do kolona s 9 puta manjom dozom od one nemodificiranih vlakana (Polyviou i sur., 2016). SCFA mogu biti toksične kod jako visokih koncentracija u lumenu kolona, mogu sniziti pH vrijednost i time poremetiti metaboličku aktivnost prisutnih mikroorganizama.

Postbiotički tretman se odnosi na direktnu aplikaciju SCFA bez potrebe za fermentacijom. Interakcija između crijevne epitelne barijere i SCFA je povezana s patologijom upalnih bolesti crijeva. Tretman bolesnika s upalnim bolestima crijeva klistirom koji sadrži SCFA rezultira boljom kliničkom slikom u odnosu na stanje prije tretmana, ali mnoga istraživanja

pokazuju isti učinak i na placebo skupini bolesnika (Hamer i sur., 2010). Razlog za raznolike rezultate istraživanja s klistirom mogu biti različite doze SCFA i broj enema u danu. Infuzija butirata u kolon miševa nije rezultirala nikakvim učincima različitim od infuzije otopine natrijeva klorida kada su tretmani bili aplicirani dvaput dnevno; učinak infuzije SCFA došao je do izražaja tek kod pet aplikacija u danu (Wong i sur., 2005). Klinička učinkovitost unosa SCFA klistiranjem dosada se pokazala nepraktičnom s obzirom na broj tretmana u danu, iako neka istraživanja navode da smanjuju upalu u mukozi promjenom ekspresije gena zaduženih za ekspresiju citokina, pojačavaju ekspresiju gena povezanih s obnavljanjem sluznice, poput onih za Wnt signalizaciju, regulaciju citoskeleta i antagonista koštano-morfo-genetskih proteina (Luceri i sur., 2016).

#### **2.4.2. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA KOD UPALNIH BOLESTI CRIJEVA**

Sindrom iritabilnog crijeva karakterizira crijevna disbioza zabilježena na ljudskim i životinjskim modelima, što dovodi do ometanja proizvodnje kratkolančanih masnih kiselina te za posljedicu ima smanjenje energetske zaliha u kolonocitima te gubitak kontrole nad lokalnom upalom sluznice. Kod sindroma iritabilnog crijeva dolazi do smanjenja broja bakterija iz odjeljka Firmicutes koje su najčešće glavni proizvođači butirata. Kod ulceroznog kolitisa i Chronove bolesti isto je smanjen broj mikroorganizama koji proizvode butirat, ali se radi o različitim vrstama bakterija. Kod ulceroznog kolitisa je smanjen broj bakterija vrsta *Roseburia intestinalis* i *Roseburia hominis*, dok je kod Chronove bolesti smanjen broj *Bifidobacterium adolescentis* i *Faecalibacterium prausnitzii*. Zbog smanjene proizvodnje SCFA, njihova koncentracija u fecesu oboljelih od upalnih bolesti crijeva je niska. Smanjene koncentracije mogu biti povezane s napredovanjem bolesti, primjerice, koncentracije butirata u fecesu su značajno niže kod pacijenta koji su u aktivnoj fazi ulceroznog kolitisa od onih u fazi remisije. Moduliranje crijevne mikrobiote korištenjem prebiotika i probiotika povećava proizvodnju SCFA *in vitro* i *in vivo* te obogaćuje mikrobnu raznolikost. Oralna suplementacija prebiotikom inulinom kod pacijenata s aktivnim oblikom ulceroznog kolitisa smanjila je dispeptične tegobe i razinu kalprotektina u stolici, važnog biomarkera za prisutnost neutrofila te indikatora crijevne upale (Zhao i sur., 2015). Pretjerana aktivacija neutrofila kod ulceroznog kolitisa uzrokuje oštećenje sluznice, dok nedostatnom aktivacijom dolazi do nekontroliranog rasta mikroorganizma zbog kojeg može doći do upale (Russo i sur. 2019). Tretman probioticima nije pokazao značajan utjecaj na remisiju kod pacijenta koji boluju od Chronove bolesti ukoliko bakterijski sojevi nemaju sposobnost proizvodnje butirata. Suplementacija bakterijama koje ga proizvode, poput *Butyrococcus pullicaecorum*, dolazi do poboljšanja integriteta crijevnog

epitela *in vitro* (Geirnaert, 2017). Još ne postoji dovoljno dokaza o poboljšanju kliničke slike upalnih bolesti crijeva ovim terapeutima. Većina *in vitro* istraživanja se radi na monokulturama epitela dok je na *in vivo* životinjskim modelima kolitis kemijski potaknut. Potrebno je još istraživanja na različitim modelima i definiranje optimalne doze i sastava terapeutika kako bi kratkolančane masne kiseline bile dio terapije kod upalnih bolesti crijeva.

### **2.4.3. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA U PRETILOSTI**

Višak masnog tkiva i napredovanje pretilosti mogu uzrokovati stanje upale. Bijelo masno tkivo, sastavljeno od adipocita i stromalnog tkiva u kojem se nalaze stanice imunskog sustava, sudjeluje u regulaciji energetskeg metabolizma. Sastavnice imunskog sustava u masnom tkivu su makrofagi, limfoidne stanice tipa 2, NK-stanice i regulacijske stanice T. Makrofagi su zaslužni za imunski odgovor masnog tkiva i povezuje ih se s porastom inzulinske rezistencije. Na mišjem modelu, SCFA vezane na GPR43 receptor uzrokuju lučenje citokina TNF- $\alpha$  u makrofagima što posljedično smanjuje gensku ekspresiju receptora za glukozu GLUT 4 koji se nalazi u masnom tkivu i reguliran je inzulinom (Nakajima i sur., 2017). U istraživanju na miševima, dijeta bogata vlaknima inhibirala je pretvorbu prointerleukina 18 u proupalni citokin interleukin 18 u stanicama kolona gdje su bili aktivirani SCFA receptori GPR43 i GPR109A (Macia i sur., 2015). SCFA ima ulogu u suzbijanju upale u crijevima uzrokovane LPS-om, endotoksinom koji se nalazi na vanjskoj membrani Gram-negativnih bakterija. Metabolička endotoksemija je stanje previsoke koncentracije LPS-a u krvi uzrokovano narušenom crijevnom barijerom i povezuje ju se s inzulinskom rezistencijom, povećanom tjelesnom masom i disfunkcijom masnog tkiva. *In vitro*, acetat i butirat smanjuju oslobađanje TNF- $\alpha$  uzrokovano LPS-om (Mehta i sur., 2010). Intravenozni unos natrijevog acetata smanjio je koncentracije TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  u pretilih žena (Rocha i sur., 2008). Postoje značajne razlike u sastavu mikrobiote s obzirom na tjelesnu masu. Osobe s prekomjernom tjelesnom masom i pretile osobe imaju veći broj bakterija iz odjeljka Bacteroidetes koji posreduju proizvodnju propionata koji, nakon apsorpcije i raspodjele po organizmu, može biti iskorišten kao supstrat za glukoneogenezu i liponeogenezu. Pretili pojedinci imaju veću koncentraciju propionata nego osobe normalne tjelesne mase. Butirat zbog svog protuupalnog učinka pokazuje potencijal za smanjenje pojava komplikacija povezanih s pretilosti kao što su inzulinska rezistencija te rizik od kardiovaskularnih i metaboličkih oboljenja (Canfora i sur., 2015).



#### **2.4.4. ULOGA KRATKOLANČANIH MASNIH KISELINA U BOLESTI RAKA DEBELOG CRIJEVA**

Butirat potiče rast epitelnih stanica kolona dok kod stanica raka debelog crijeva ima suprotan, inhibirajući učinak. Taj je fenomen poznat pod nazivom "butiratski paradoks". Normalnim kolonocitima glavni je izvor energije stanično disanje, a promijenjeni kolonociti tumora koriste anaerobnu glikolizu kao izvor energije (Encarnação i sur., 2015). U uvjetima anaerobne glikolize ograničena je oksidacija masnih kiselina pa se butirat nakuplja u citoplazmi zbog čega dolazi do inhibicije HDAC aktivnosti što čini tumorske stanice kolona osjetljivim na mehanizme apoptoze (Encarnação i sur., 2015). Inhibicija HDAC aktivnosti sprječava upalnu reakciju posredovanu makrofagima jer se smanjuje sekrecija upalnih citokina. Osim inhibicije HDAC aktivnosti, i signalizacija putem GPR109A receptora promicala je protuupalna svojstva u makrofagima i dendritičkim stanicama debelog crijeva miševa i omogućila je induciranje diferencijacije regulacijskih limfocita T koji proizvode IL-10. Štoviše, GPR109A bio je bitan za indukciju IL-18 posredovanu butiratom u epitelu debelog crijeva. Aktivacija GPR109A inhibira proupalne NF- $\kappa$ B signalne puteve i uzrokuje apoptozu tumorskih stanica (Singh i sur., 2014). Nedostatak GPR109A receptora povećava upalu i kancerogenezu u kolonu (Thangaraju i sur., 2009).

### 3. ZAKLJUČAK

Interakcije između crijevne mikrobiote i imunskog sustava su kompleksne i uključuju mnogo komponenti i različitih mehanizama. Kratkolančane masne kiseline su poveznica između crijevne mikrobiote i imunskog sustava te imaju ulogu u održavanju crijevne homeostaze i u razvoju bolesti. Sve je više znanstvenih dokaza o imunomodulacijskom učinku kratkolančanih masnih kiselina, posebno u diferencijaciji limfocita T i smanjenju lučenja upalnih citokina. Postoji veliki potencijal za korištenje kratkolančanih masnih kiselina kao terapeutika kod bolesti povezanih s kolonom, poput upalnih bolesti crijeva te raka debelog crijeva. Većina istraživanja koristi *in vitro* sustave ili životinjske modele tako da je potrebno uzeti u obzir ekstrapolaciju na ljudski organizam te su potrebna klinička ispitivanja da se potvrde dobiveni učinci. Razvijanje novih strategija i ciljanje mehanizama HDAC inhibicije i aktivacije FFAR receptora trebala bi biti fokus istraživanja o terapijskom učinku kratkolančanih masnih kiselina. Prehrana bogata vlaknima koja su supstrat za anaerobnu fermentaciju u crijevima i sirovina za proizvodnju kratkolančanih masnih kiselina je dobar način prevencije od kroničnih bolesti i održavanja crijevne homeostaze.

## 4. LITERATURA

1. Adom D., Nie D. (2013) Regulation of autophagy by short chain fatty acids in colon cancer cells. U: Autophagy – A double-edged sword – Cell survival or Death? Bailly Y, ur., BoD – Books on Demand, str. 235 – 249.
2. Annison G., Illman R. J., Topping D. L. (2003) Acetylated, propionylated or butyrylated starches raise large bowel short-chain fatty acids preferentially when fed to rats. *The Journal of Nutrition* **133**: 3523 – 3528.
3. Bain C. C., Bravo-Blas A., Scott C. L., Perdiguero E. G., Geissmann F., Henri S., Malissen B., Osborne L. C., Artis D., Mowat A. M. (2014) Constant replenishment from circulating monocytes maintains the macrophage pool in the intestine of adult mice. *Nature Immunology* **15**: 929 – 937.
4. Belizário J. E., Napolitano M. (2015) Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic approaches. *Frontiers in microbiology* **6**: 1050.
5. Berg G., Rybakova D., Fischer D., Cernava T., Vergès M. C., Charles T., Chen X., Cocolin L., Eversole K., Corral G. H. i sur. (2020) Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, **8**: 103.
6. Boets E., Deroover L., Houben E., Vermeulen K., Gomand S. V., Delcour J. A., Verbeke K. (2015) Quantification of in vivo colonic short chain fatty acid production from inulin. *Nutrients* **7**: 8916 – 8929.
7. Bull M. J., Plummer N.T. (2014) Part 1: The human gut microbiome in health and disease. *Integrative Medicine* **13**: 17 – 22.
8. Canfora E. E., Jocken J. W., Blaak E. E. (2015) Shortchain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. *Nature Reviews Endocrinology* **11**: 577 – 591.
9. Cavaglieri C. R., Nishiyama A., Fernandes L. C., Curi R., Miles E. A., Calder P. C. (2003) Differential effects of short-chain fatty acids on proliferation and production of pro- and anti-inflammatory cytokines by cultured lymphocytes. *Life Sciences* **73**: 1683 – 1690.
10. Chang P. V., Hao L., Offermanns S., Medzhitov R. (2014) The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **111**: 2247 – 2252.
11. Cheng D., Xu J. H., Li J. Y., Wang S. Y., Wu T. F., Chen Q. K., Yu T. (2018) Butyrate ameliorated-NLRC3 protects the intestinal barrier in a GPR43-dependent manner. *Experimental cell research* **368**: 101 – 110.

12. Clausen M. R., Mortensen P. B. (1995) Kinetic studies on colonocyte metabolism of short chain fatty acids and glucose in ulcerative colitis. *Gut* **37**: 684 – 689.
13. Corrêa-Oliveira R., Fachi J. L., Vieira A., Sato F. T., Vinolo M., A. (2016) Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clinical and translational immunology* **5**: e73.
14. Cox M. A., Jackson J., Stanton M., Rojas-Triana A., Bober L., Lavery M., Yang X., Zhu F., Liu J., Wang S., Monsma F. i sur. (2009) Short-chain fatty acids act as antiinflammatory mediators by regulating prostaglandin E(2) and cytokines. *World journal of gastroenterology* **15**: 5549 – 5557.
15. Cresci G. A., Bawden E. (2015) Gut Microbiome: What We Do and Don't Know. *Nutrition in clinical practice: official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition* **30**: 734 – 746.
16. Deleu S., Machiels K., Raes J., Verbeke K., Vermeire S. (2021) Short chain fatty acids and its producing organisms: An overlooked therapy for IBD? *EBioMedicine* **66**: 103293.
17. Donovan J. D., Bauer L., Fahey G. C., Lee, Y. (2017) *In vitro* digestion and fermentation of microencapsulated tributyrin for the delivery of butyrate. *Journal of food science* **82**: 1491 – 1499.
18. Dostal A., Chassard C., Hilty F. M., Zimmermann M. B., Jaeggi T., Rossi S., Lacroix C. (2012) Iron depletion and repletion with ferrous sulfate or electrolytic iron modifies the composition and metabolic activity of the gut microbiota in rats. *The Journal of nutrition* **142**: 271 – 277.
19. Dostal A., Lacroix C., Bircher L., Pham V. T., Follador R., Zimmermann M. B., Chassard, C. (2015) Iron modulates butyrate production by a child gut microbiota *in vitro*. *MBio* **6**: e01453-15.
20. D'Souza W. N., Douangpanya J., Mu S., Jaeckel P., Zhang M., Maxwell J. R., Rottman J. B., Labitzke K., Willee A., Beckmann H. i sur. (2017) Differing roles for short chain fatty acids and GPR43 agonism in the regulation of intestinal barrier function and immune responses. *PLoS One*. **12**: e0180190.
21. Encarnação J. C., Abrantes A. M., Pires A. S., Botelho M. F. (2015) Revisit dietary fiber on colorectal cancer: butyrate and its role on prevention and treatment. *Cancer metastasis reviews*. **34**: 465 – 478.
22. Feng W., Wu Y., Chen G., Fu S., Li B., Huang B., Wang D., Liu J. (2018) Sodium butyrate attenuates diarrhea in weaned piglets and promotes tight junction protein

- expression in colon in a GPR109A-dependent manner. *Cellular Physiology and Biochemistry* **47**: 1617 – 1629.
23. Fernández J., Redondo S., Gutiérrez del Río I., Miguélez E. M., Villar C. J., Lombó F. (2016) Colon microbiota fermentation of dietary prebiotics towards short-chain fatty acids and their roles as anti-inflammatory and antitumour agents: A review. *Journal of Functional Foods* **25**: 511 – 522.
24. Geirnaert, A., Calatayud, M., Grootaert C., Laukens D., Devriese S., Smaghe G., De Vos M., Boon N., Van de Wiele T. (2017) Butyrate-producing bacteria supplemented *in vitro* to Crohn's disease patient microbiota increased butyrate production and enhanced intestinal epithelial barrier integrity. *Scientific reports* **7**: 11450.
25. Gill P. A., van Zelm M. C., Muir J. G., Gibson P. R. (2018) Review article: short chain fatty acids as potential therapeutic agents in human gastrointestinal and inflammatory disorders. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **48**: 15 – 34.
26. Hamer H. M., Jonkers D. M., Vanhoutvin S. A., Troost F. J., Rijkers G., de Bruïne A., Bast A., Venema K., Brummer R. J. (2010) Effect of butyrate enemas on inflammation and antioxidant status in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis in remission. *Clinical nutrition* **29**: 738 – 744.
27. Høverstad T., Midtvedt T. (1986) Short-chain fatty acids in germfree mice and rats. *The Journal of nutrition* **116**: 1772 – 1776.
28. Joss A., Akdis M., Faith A., Blaser K., Akdis C. A. (2000) IL-10 directly acts on T cells by specifically altering the CD28 co-stimulation pathway. *European journal of immunology* **30**: 1683 – 1690.
29. Kimura I., Inoue D., Maeda T., Hara T., Ichimura A., Miyauchi S., Kobayashi M., Hirasawa A., Tsujimoto G. (2011) Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **108**: 8030 – 8035.
30. Lederberg J., McCray A. T. (2001). `Ome Sweet `Omics--A Genealogical Treasury of Words. *The Scientist* **15**: 8.
31. Luceri C., Femia A. P., Fazi M., Di Martino C., Zolfanelli F., Dolaro P., Tonell F. (2016) Effect of butyrate enemas on gene expression profiles and endoscopic/histopathological scores of diverted colorectal mucosa: a randomized trial. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* **48**: 27 – 33.

32. Maa M. C., Chang M. Y., Hsieh M. Y., Chen Y. J., Yang C. J., Chen Z. C., Li Y. K., Yen C. K., Wu R. R., Leu, T. H. (2010) Butyrate reduced lipopolysaccharide-mediated macrophage migration by suppression of Src enhancement and focal adhesion kinase activity. *The Journal of nutritional biochemistry* **21**: 1186 – 1192.
33. Macia L., Tan J., Vieira A. T., Leach K., Stanley D., Luong S., Maruya M., Ian McKenzie C., Hijikata A., Wong C. i sur. (2015) Metabolite-sensing receptors GPR43 and GPR109A facilitate dietary fibre-induced gut homeostasis through regulation of the inflammasome. *Nature communications* **6**: 6734.
34. Maslowski K. M., Vieira A. T., Ng A., Kranich J., Sierro F., Yu D., Schilter H. C., Rolph M. S., Mackay F., Artis D. i sur. (2009) Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature* **461**: 1282 – 1286.
35. Mehta N. N., McGillicuddy F. C., Anderson P. D., Hinkle C. C., Shah R., Pruscino L., Tabita-Martinez J., Sellers K. F., Rickels M. R., Reilly M. P. (2010) Experimental endotoxemia induces adipose inflammation and insulin resistance in humans. *Diabetes* **59**: 172 – 181.
36. Milligan G., Bolognini D., Sergeev E. (2017) Ligands at the Free Fatty Acid Receptors 2/3 (GPR43/GPR41). *Handbook of experimental pharmacology* **236**: 17–32.
37. Nakatani M., Inoue R., Tomonaga S., Fukuta K., Tsukahara T. (2018) Production, Absorption, and Blood Flow Dynamics of Short-Chain Fatty Acids Produced by Fermentation in Piglet Hindgut during the Suckling-Weaning Period. *Nutrients*, **10**: 1220.
38. Nakajima A., Nakatani A., Hasegawa S., Irie J., Ozawa K., Tsujimoto G., Suganami T., Itoh H., Kimura, I. (2017) The short chain fatty acid receptor GPR43 regulates inflammatory signals in adipose tissue M2-type macrophages. *PloS one* **12**:
39. Nastasi C., Candela M., Bonfeld C. M., Geisler C., Hansen M., Krejsgaard T., Biagi E., Andersen M. H., Brigidi P., Ødum N. (2015) The effect of short-chain fatty acids on human monocyte-derived dendritic cells. *Scientific reports* **5**: 16148.
40. Peng L., Li Z. R., Green R. S., Holzman I. R., Lin J. (2009) Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *The Journal of nutrition* **139**: 1619 – 1625.
41. Pluznick J. (2014) A novel SCFA receptor, the microbiota, and blood pressure regulation. *Gut microbes* **5**: 202 – 207.
42. Poje G., Rajić Z. (2020) Inhibitori histonskih deacetilaza kao protutumorski lijekovi, *Farmaceutski glasnik* **76**: 261 – 280.

43. Polyviou T., MacDougall K., Chambers E. S., Viardot A., Psichas A., Jawaid S., Harris H. C., Edwards C. A., Simpson L., Murphy K. G. (2016) Randomised clinical study: inulin short-chain fatty acid esters for targeted delivery of short-chain fatty acids to the human colon. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **44**: 662 – 672.
44. Raqib R., Sarker P., Bergman P., Ara G., Lindh M., Sack, D. A., Nasirul Islam K. M., Gudmundsson G. H., Andersson J., Agerberth B. (2006) Improved outcome in shigellosis associated with butyrate induction of an endogenous peptide antibiotic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**: 9178 – 9183.
45. Ratajczak W., Rył A., Mizerski A., Walczakiewicz K., Sipak O., Laszczyńska M. (2019) Immunomodulatory potential of gut microbiome-derived short-chain fatty acids (SCFAs). *Acta biochimica Polonica* **66**: 1 – 12.
46. Reichardt N., Duncan S. H., Young P., Belenguer A., McWilliam Leitch C., Scott K. P., Flint H. J., Louis, P. (2014) Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. *The ISME journal* **8**: 1323 – 1335.
47. Rocha V. Z., Folco E. J., Sukhova G., Shimizu K., Gotsman I., Vernon A. H., Libby P. (2008) Interferon-gamma, a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: a role for adaptive immunity in obesity. *Circulation research* **3**: 467 – 476.
48. Rosser E. C., Piper C., Matei D. E., Blair P. A., Rendeiro A. F., Orford M., Alber D. G., Krausgruber T., Catalan D., Klein N. (2020) Microbiota-derived metabolites suppress arthritis by amplifying aryl-hydrocarbon receptor activation in regulatory B cells. *Cell metabolism* **31**: 837 – 851.
49. Rodrigues H. G., Takeo Sato F., Curi R., Vinolo, M. (2016) Fatty acids as modulators of neutrophil recruitment, function and survival. *European journal of pharmacology*, **785**: 50 – 58.
50. Russo E., Giudici F., Fiorindi C., Ficari F., Scaringi S., Amedei A. (2019) Immunomodulating activity and therapeutic effects of short chain fatty acids and tryptophan post-biotics in inflammatory bowel Disease. *Frontiers in immunology* **10**: 2754.
51. Schulthess J., Pandey S., Capitani M., Rue-Albrecht K. C., Arnold I., Franchini F., Chomka A., Ilott N. E., Johnston, D., Pires E. i sur. (2019) The short chain fatty acid butyrate imprints an antimicrobial program in macrophages. *Immunity* **50**: 432 – 445.
52. Singh N., Gurav A., Sivaprakasam S., Brady E., Padia R., Shi H., Thangaraju M., Prasad P. D., Manicassamy S., Munn D. H. i sur. (2014) Activation of Gpr109a, receptor for

- niacin and the commensal metabolite butyrate, suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. *Immunity* **40**: 128 – 139.
53. Sivaprakasam S., Bhutia Y. D., Yang S., Ganapathy V. (2017) Short-chain fatty acid transporters: Role in colonic homeostasis. *Comprehensive Physiology* **8**: 299 – 314.
54. Stumpff F. (2018) A look at the smelly side of physiology: transport of short chain fatty acids. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology* **470**: 571 – 598.
55. Tao R., de Zoeten E. F., Ozkaynak E., Chen C., Wang L., Porrett P. M., Li B., Turka L. A., Olson E. N., Greene M. I. (2007) Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells. *Nature medicine* **13**: 1299 – 1307.
56. Thangaraju M., Cresci G. A., Liu K., Ananth S., Gnanaprakasam J. P., Browning D. D., Mellinger J. D., Smith S. B., Digby G. J., Lambert N. A. (2009) GPR109A is a G-protein-coupled receptor for the bacterial fermentation product butyrate and functions as a tumor suppressor in colon. *Cancer research* **69**: 2826 – 2832.
57. Tolhurst G., Heffron H., Lam Y. S., Parker H. E., Habib A. M., Diakogiannaki E., Cameron J., Grosse J., Reimann F., Gribble F. M. (2012) Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes* **61**: 364 – 371.
58. Vinolo M. A., Hatanaka E., Lambertucci R. H., Newsholme P., Curi R. (2009) Effects of short chain fatty acids on effector mechanisms of neutrophils. *Cell biochemistry and function* **27**: 48 – 55.
59. Walker A. W., Duncan S. H., McWilliam Leitch E. C., Child M. W., Flint H. J. (2005) pH and peptide supply can radically alter bacterial populations and short-chain fatty acid ratios within microbial communities from the human colon. *Applied and environmental microbiology* **71**: 3692 – 3700.
60. Wong J. M., de Souza R., Kendall C. W., Emam A., Jenkins D. J. (2006) Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *Journal of clinical gastroenterology* **40**: 235 – 243.
61. Zhao M., Zhu W., Gong J., Zuo L., Zhao J., Sun J., Li N., Li J. (2015) Dietary fiber intake is associated with increased colonic mucosal GPR43+ polymorphonuclear infiltration in active Crohn's Disease. *Nutrients* **7**: 5327 – 5346.



## IZJAVA O IZVORNOSTI

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Paula Kralj Vrsalović