

# UTJECAJ HRANE NA MIKROBIOM PROBAVNOG SUSTAVA PASA

---

Raguž, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:381418>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
STUDIJ *VETERINARSKA MEDICINA*

DIPLOMSKI RAD

IVANA RAGUŽ

UTJECAJ HRANE NA MIKROBIOM PROBAVNOG SUSTAVA PASA

Zagreb, 2024.

Ivana Raguž

Zavod za prehranu i dijetetiku životinja  
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnica: doc. dr. sc. Diana Brozić

Mentorica: doc. dr. sc. Diana Brozić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Hrvoje Valpotić
2. prof. dr. sc. Tomislav Mašek
3. doc. dr. sc. Diana Brozić
4. prof. dr. sc. Željko Mikulec (zamjena)

Rad sadržava 47 stranica, 4 tablice i 68 literaturnih navoda

## ZAHVALA

*Ovim putem bih se željela zahvaliti svojoj mentorici, doc. dr. sc. Diani Brozić na strpljenju, ukazanom povjerenju te podršci prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Najveću zahvalu želim uputiti svojoj obitelji, braći i seki, koja je bila uvijek tu za mene i čija mi je ljubav i podrška pravi vjetar u leđa. Veliko hvala mojim roditeljima koji su mi omogućili sve, čak i više od onoga što mi je potrebno, a moje je bilo jedino da učim i uživam u ovim studentskim danima najviše što mogu.*

*Također, želim se zahvaliti svim mojim prijateljima i dragim ljudima koji su mi uljepšali period studiranja, a posebno hvala Nikoli bez koga ovih 6 godina ne bi bile tako zabavne i koji mi je maksimalno olakšao cijelo ovo putovanje.*

## POPIS KRATICA

**GI** sustav – gastrointestinalni sustav

**rRNA** – ribosomska RNA

**GABA** – gama-aminomaslačna kiselina

**Treg** – T regulatorne stanice

**qPCR** – kvantitativna lančana reakcija polimeraze

**PCR** - lančana reakcija polimeraze

**IBD** – eng. *inflammatory bowel disease*, upalna bolest crijeva

**FMT** – eng. *fecal microbiome transplantation*, transplantacija fekalnog mikrobioma

**FISH** – eng. *fluorescence in situ hybridization*, fluorescencijska in situ hibridizacija

**IHC** – eng. *immunohistochemistry*, imunohistokemija

**GALT** – eng. *gut-associated lymphoid tissue*, limfoidno tkivo pridruženo crijevnoj sluznici

## POPIS TABLICA

**Tablica 1.** Često korištene metode za identifikaciju crijevnog mikrobioma

**Tablica 2.** Taksonomski prikaz bakterija u crijevnom mikrobiomu pasa

**Tablica 3.** Glavni učinci različitih vrsta vlakana u fekalnom mikrobiomu i metabolomu pasa

**Tablica 4.** Sažetak rezultata istraživanja koja su istraživala učinak visokoproteinskih dijeta na crijevni mikrobiom pasa

# SADRŽAJ

SADRŽAJ .....	1
<b>1. UVOD</b> .....	2
<b>2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA</b> .....	3
2.1. METODE ZA ANALIZU MIKROBIOMA .....	3
2.1.1. BAKTERIJSKE KULTURE .....	4
2.1.2. MOLEKULARNE METODE .....	4
<b>3. JEZGRA MIKROBIOMA</b> .....	8
<b>4. RAZVOJ MIKROBIOMA</b> .....	9
<b>5. ODRŽAVANJE I STABILNOST GASTROINTESTINALNOG MIKROBIOMA</b> .....	11
<b>6. UTJECAJ PREHRANE NA MIKROBIOM PASA</b> .....	13
<b>7. UTJECAJ INTERAKCIJE MIKROBA I DOMAĆINA NA POJAVU DISBIOZE I BOLESNIH STANJA</b> .....	18
<b>8. UTJECAJ PREHRANE NASPRAM BOLESTI NA MIKROBIOM CRIJEVA</b> .....	22
<b>9. UTJECAJ TERAPEUTSKOG LIJEČENJA NA CRIJEVNI MIKROBIOM</b> .....	23
9.1. PREBIOTICI .....	23
9.2. PROBIOTICI .....	24
9.3. ANTIBIOTICI .....	25
9.4. TRANSPLANTACIJA FEKALNOG MIKROBIOMA .....	26
<b>10. ZAKLJUČCI</b> .....	27
<b>11. LITERATURA</b> .....	28
<b>13. SUMMARY</b> .....	40
<b>14. ŽIVOTOPIS</b> .....	41

## 1. UVOD

Mikrobiom crijeva pasa sastoji se od bakterija, arheja, virusa i eukariotskih organizama koji se nalaze u gastrointestinalnom (GI) sustavu. Bakterije čine najveći dio mikrobioma te su odgovorne za probavne funkcije, kao što je fermentacija vlakana. Osim samog utjecaja na probavu hrane, mikrobiom probavnog sustava također utječe na homeostazu, metabolizam, zdravlje crijevnog epitela, neurobihevioralni razvoj i imunološki sustav te štiti domaćina od patogenih organizama (BARKO i sur., 2018.). Mnoge bolesti, sustavne ili lokalne, povezane su s disbiozom. Disbioza crijeva definirana je kao promjena u sastavu crijevnog mikrobioma koja utječe na njegovu funkciju. Povećanje broja fakultativno anaerobnih bakterija iz obitelji *Enterobacteriaceae* jedno je od glavnih obilježja disbioze. Promjene u sastavu mikrobioma crijeva također utječu na imunološki sustav, odnosno na proizvodnju protutijela te diferencijaciju pomoćničkih T-limfocita (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.). Različiti radovi povezuju disbiozu crijeva s metaboličkim bolestima, pretilošću, astmom, onkološkim bolestima, disfunkcijama neurološkog sustava i mnogim drugim stanjima. No, prilikom tumačenja tih rezultata treba biti oprezan budući da sam uzrok tih stanja multifaktorijalan, a disbioza crijeva može biti samo simptom, ali ne i uzrok bolesti. Mikrobiom probavnog sustava pasa pod utjecajem je hranjivih tvari pri čemu može doći do promjene udjela metabolita mikrobioma te samim time i funkcije mikrobioma. Neke bakterijske vrste fermentiraju različite vrste vlakana i lako probavljivih ugljikohidrata, dok su druge predominantno proteolitičke bakterije. Stoga će promjene u prehrani, koje utječu na dostupnost tih supstrata u probavnom sustavu, rezultirati promjenama mikrobioma. Promjene mikrobioma su individualne. Značajnu evolucijsku prednost ima činjenica da mikrobiom predstavlja ekosustav koji nastanjuju vrste koje nisu međusobno povezane. Ako samo jedna vrsta obavlja važnu funkciju, svaki negativan utjecaj na mikrobiom, kao što je liječenje antibioticima, uskraćuje domaćina njezine funkcije. Stoga, što više različitih vrsta je potrebno za otpornost mikrobioma te što je veća raznolikost vrsta unutar mikrobioma, to je on zdraviji (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.). Promjene u mikrobiomu probavnog sustava povezane su s bolestima kao što su: upalna bolest crijeva, astma, pretilost, metabolički sindrom, kardiovaskularne bolesti, imunološki posredovana stanja i mnoge druge. Pojedine regije GI sustava kolonizirane su različitim bakterijama što ovisi o uvjetima u tom dijelu probavnog sustava. Većinu populacije tankog crijeva čine aerobne bakterije dok u debelom crijevu uglavnom prevladavaju anaerobi. Budući da je uzorkovanje iz proksimalnog

dijela crijeva poprilično teško, većina kliničkih istraživanja je usmjerena na crijevni mikrobiom debelog crijeva te se većina najrelevantnijih bakterijskih vrsta može pouzdano dokazati u izmetu.

## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. METODE ZA ANALIZU MIKROBIOMA

Unatoč napretku molekularnih metoda koje se koriste za identifikaciju mikrobioma crijeva, još uvijek je teško opisati sve bakterije koje se nalaze unutar zajednice mikrobioma zbog njegove filogenetske raznolikosti (BLAKE i SUCHODOLSKI, 2016.). Metode koje se najčešće upotrebljavaju su temeljene na sekvencioniranju gena 16S ribosomske RNA (rRNA), ali izazov predstavlja to što one nemaju dovoljnu osjetljivost kako bi se identificirale sve prisutne bakterije, posebno one na razini vrste ili soja. Također, slične vrste bakterija mogu ekspimirati različite gene i zbog toga imati različite metaboličke funkcije što ovisi o svojstvima okoliša unutar lumena crijeva (hranjive tvari, pH, specifični metaboliti). Ekspresija čimbenika virulencije bakterija može također ovisiti o koncentraciji metabolita unutar crijevnog lumena. Tako na primjer, kada je organizam u stanju stresa dolazi do lučenja norepinefrina koji tada modificira gene *Salmonelle* i time može inducirati enteritis. Također, prekomjeren rast enteropatogenih bakterija može biti prouzrokovan i poremećajem metabolizma žučnih kiselina. Svi ovi primjeri nam upućuju da bi klinička istraživanja mikrobioma crijeva trebala obuhvatiti komplementarne pristupe kao što su – filogenetska procjena bakterija (PCR za bakterije, sekvenciranje gena 16S rRNA), funkcionalnih gena bakterija (PCR za funkcionalne gene, DNA sekvenciranje genoma metodom sačmarice) i metabolite mikrobnog podrijetla. Naravno, osim toga, potrebno je prikupiti i detaljne podatke o pacijentu, kao što su povijest liječenja, vrsta prehrane i konačne dijagnoze (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.).

### 2.1.1. BAKTERIJSKE KULTURE

Većina bakterija u crijevima, osobito one prisutna u debelom crijevu, strogi su anaerobi te im je kao takvima potreban medij kako bi mogle rasti (LAU i sur., 2016.). U nekim posebno opremljenim istraživačkim laboratorijima postoji mogućnost uzgoja crijevnih bakterija kombinacijom molekularnih alata za identifikaciju, nakon čega je potrebno optimizirati uvjete kulture za njihov rast i uzgoj. Veterinarski dijagnostički laboratoriji koji koriste tradicionalnu mikrobiološku pretragu mogu izolirati samo mali broj bakterijskih vrste iz fecesa kliničkih pacijenata, budući da koriste standardne medije za njihov rast (WERNER i sur., 2018.). Međutim, kulture bakterijskih stanica su jako bitne za dokazivanje osjetljivosti na antibiotike. Posebice za one bakterijske vrste koje se mogu uzgajati na bakterijskim kulturama i za koje se zna da su povezane s crijevnim infekcijama, kao što je *Salmonella* spp. (SUCHODOLOSKI, 2022.).

### 2.1.2. MOLEKULARNE METODE

Iako se mikrobiološka metoda uzgoja na podlogama smatra korisnom i učinkovitom za one bakterije koje se mogu uzgajati u takvim uvjetima, danas se sve veću prednost daje molekularnim metodama koje mogu identificirati one vrste bakterija koje ne možemo uzgojiti na hranjivim podlogam (BLAKE i SUCHODOLSKI, 2016.). Molekularne metode, kao što su DNA sekvenciranje genoma metodom sačmarice (eng. *shotgun sequencing*) i sekvenciranje gena 16S rRNA, imaju cilj utvrditi raznolikost vrsta unutar uzorka. Prednost se daje DNA sekvenciranju metodom sačmarice zbog toga što zbog sekvenciranja funkcionalnih gena nadilazi identifikaciju bakterija u usporedbi s drugim metodama (Tablica 1). Međutim, mana joj je što zahtjeva velike količine DNK iz uzorka i što je puno skuplja. Za kvantifikaciju specifičnih rodova koji se identificiraju kao klinički relevantni koristi se kvalitativno lančana reakcija polimerazom (eng. *qualitative polymerase chain reaction*, qPCR), koja se smatra brzom i pristupačnom metodom (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.).

DNA sekvenciranje genoma metodom sačmarice, ili metagenomika, sekvencira izoliranu DNK u uzorku, međutim bez prethodnog umnožavanja pomoću PCR-a. Ova metoda nam služi kako bismo na temelju identifikacije različitih gena mogli procijeniti taksonomiju te funkcionalne gene unutar mikrobioma. U usporedbi sa sekvenciranjem gena 16S rRNA, ova metoda ima bolju sposobnost identifikacije na razini soja i vrste, budući da može sekvencirati više gena iz jednog organizma. Zahvaljujući ovoj metodi imamo mogućnost utvrditi prisutnost i drugih članova mikrobne zajednice crijeva, kao što su gljivice, arheje i virusi. Prilikom analize uzorka fecesa pasa utvrđeno je da bakterije čine otprilike 98 % crijevnog mikrobioma, dok arheje čine svega 1 %, a DNK virusa i gljivica preostalih 1 % (TUN i sur., 2012.). Osim toga, ova metoda bi bila poželjna za analizu crijevnog mikrobioma u znanstvenim istraživanjima zbog toga što pruža detaljne informacije o prisutnosti gena za virulentnost te gena za antimikrobnu rezistenciju. Nažalost, rijetko se upotrebljava u veterinarskoj medicini zato što donosi puno veće troškove u usporedbi s 16S rRNA sekvenciranjem gena. Osim toga, virusi predstavljaju bitan dio mikrobioma crijeva, ali su informacije o virionu dostupne ograničenom opsegu. Opisivanje cijelog viriona predstavlja izazov jer se sastoji od DNA i RNA virusa, stoga bi bilo potrebno koristiti sekvenciranje koje kombinira analizu DNA i RNA. Budući da su troškovi ove analize izuzetno visoki, u istraživanje se može uključiti ograničen broj pasa pa na temelju toga ne možemo donijeti zaključke o ulozi ovih novih virusa u crijevnim bolestima (SUCHODOLSKI, 2022.).

Sekvenciranje 16S rRNA je metoda koja predstavlja standardni pristup u istraživanjima mikrobioma. Najviše se koristi za analizu crijevnih bakterija u pasa i mačaka gdje se DNK izolira iz uzorka fecesa. Ona nam pruža detaljne i korisne podatke o mikrobnom sustavu, o razlici bakterijskih skupina ili cijele zajednice između zdravih i bolesnih životinja te kako različite vrste unutar crijevne zajednice reagiraju na promjenu prehrane ili primjenu terapije. Sekvenciranje 16S rRNA je korisna metoda kojom bismo otkrili razlike u sastavu crijevnog mikrobioma, ali nije toliko relevantna za otkrivanje koje točno bakterijske vrste uzrokuju promjene (Tablica 1). Također, kod genetski sličnih rodova, kao što su *Escherichia* i *Shigella*, postoji visok stupanj identičnosti gena 16S rRNA što ograničava njihovu upotrebu za identifikaciju oportunističkih patogenih bakterija (KOSECKA-STROJEK i sur., 2019.). Iako ne postoji bolji pristup za sekvenciranje gena od 16S rRNA mikrobioma, razumijevanje nekih prisutnih ograničenja, odabir dosljednosti u metodama te korištenje komplementarnih metoda,

kao što je qPCR, možemo uvelike pomoći u davanju odgovora na temeljna znanstvena pitanja (SUCHODOLSKI, 2022.).

Kvalitativno lančana reakcija polimerizacije (qPCR) je izuzetno korisna metoda za kvantifikaciju ukupnih bakterija ili pojedinih rodova unutar mikrobioma (Tablica 1). Ova metoda je brza, pristupačna te vrlo ponovljiva kako bi se kvantificirali specifični rodovi koji su identificirani kao klinički relevantni na temelju prethodnih istraživanja (KURINA i sur., 2020.).

Kako bismo razumjeli ulogu bakterija u crijevnoj upali, od velike koristi bi bilo odrediti njihovu lokaciju unutar crijeva. Bakterije mogu biti smještene unutar sloja sluzi, unutar stanice ili mogu biti pričvršćene za crijevni epitel. Možemo ih ustanoviti na stakalcima za biopsiju s pomoću fluorescentne in situ hibridizacije (FISH) ili imunohistokemije (IHC) (GIARETTA i sur., 2020.). Glavna prednost FISH-a je njezina mogućnost vizualizacije lokalizacije bakterije te je zbog toga ujedno i češće korištena metoda. Za provođenje ove metode potrebno je dizajnirati posebne sonde za određene vrste bakterija koje su nam od interesa te je također potrebna i skupa mikroskopska oprema, što predstavlja njezine glavne nedostatke (Tablica 1). Budući da samo nekoliko specijaliziranih laboratorija rutinski provodi FISH, kliničarima često predstavlja izazov dostava uzoraka te dobivanje rezultata pretrage na vrijeme. Iz tog razloga, IHC predstavlja dostupniju opciju za identifikaciju bakterija i određivanje njihove lokacije u crijevima (SUCHODOLSKI, 2022.).

**Tablica 1.** Često korištene metode za identifikaciju crijevnog mikrobioma

(Izvor: SUCHODOLSKI, 2020.)

METODA	CILJ	OPIS	PREDNOSTI	NEDOSTACI
FISH	Identifikacija, kvantifikacija, vizualizacija bakterijskih stanica u tkivu	Oligonukleotidne sonde obilježene fluorescentnom bojom hibridiziraju se na sekvence rRNA u bakterijskim stanicama	Korisna metoda za kvantifikaciju bakterija, omogućuje lokalizaciju bakterija u tkivu	Potrebno je razviti FISH sonde za svaku interesnu skupinu bakterija
qPCR	Kvantifikacija bakterijskih rodova	Ciljni organizmi se kvantificiraju korištenjem početnica i/ili sonde obilježenih fluorescentnom bojom	Brza, ponovljiva, jeftina i kvantitativna metoda	Početnice i sonde moraju biti dizajnirane za svaku interesnu skupinu
16S rRNA sekvenciranje	Identifikacija bakterija u uzorku, mjeri relativnu brojnost	Bakterije se umnožavaju korištenjem univerzalnih početnica koje ciljaju gen 16S rRNA	Visoka propusnost, relativno jeftina, omogućuje identifikaciju bakterija, polukvantitativno, omogućuje opisivanje promjena unutar zajednice mikrobima	Zahtjeva naprednu bioinformatiku; promjene u taksonomskim bazama podataka otežavaju usporedbu rezultata među studijima; ne dopušta otkrivanje promjena u ukupnom broju bakterija
DNA sekvenciranje genoma metodom sačmarice	Identifikacija mikrobnih gena prisutnih u uzorku	Genomska DNA se fragmentira i zatim nasumično sekvencira (bez PCR amplifikacije)	Pružuje filogenetske informacije te informacije o prisutnosti funkcionalnih gena u uzorku	Skupo, zahtjeva naprednu bioinformatiku, ne dopušta otkrivanje promjena u ukupnom broju bakterija

### 3. JEZGRA MIKROBIOMA

Ključne vrste bakterija konstantno su prisutne u crijevnim uzorcima zdravih pasa, što upućuje na postojanje bakterijske zajednice kao jezgre mikrobioma. Unutar crijevnog mikrobioma dominiraju 3 tipa bakterija: *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Fusobacterium*, koje su prikazane u Tablici 2. (MIDDELBOSS i sur., 2010.). Unutar ove zajednice baterija mnogi rodovi, kao što su rod *Clostridia* i *Bacilli*, koji pripadaju koljenu Firmicutes proizvode kratkolančane masne kiseline (GARCIA-MAZCORRO i sur., 2011.). Koljeno *Bacteroidetes*, uključujući *Prevotellu* i *Bacteroides*, su većinski zastupljene bakterije u crijevima čija se brojnost kod pasa vrlo razlikuje (Tablica 2). Nalazom bakterija iz roda *Fusobacterium* upućuje na zdravlje crijevnog mikrobioma, što je suprotno nalazu tih bakterija u ljudi gdje one predstavljaju patogene koji su povezani s kolorektalnim karcinomom (AMITAY i sur., 2017.). Također, unutar crijevne zajednice prisutne su vrste kao što su *Fusobacterium mortiferum* i *Fusobacterium perfoetans*, koje imaju malo drugačiju ulogu. Razne gastrointestinalne bolesti te liječenje antibioticima igraju veliku ulogu na *Fusobacterium* te je primijećeno kako je njihov oporavak obično sporiji od oporavka drugih bakterija (PILLA i sur., 2020.). Bakterije koje se često identificiraju unutar mikrobne zajednice su *Proteobacteria* i *Actinobacteria*. One obično koloniziraju tanko crijevo te su u fiziološkim uvjetima prisutne u manjem broju. Na primjer, bakterije unutar porodice *Enterobacteriaceae*, kao što je *Echerichia coli*, fakultativni su anaerobi, što im omogućava iskorištavanje kisika koji se nalazi unutar tankog crijeva. Unatoč tome što predstavljaju normalan dio mikrobioma, njihov porast povezan je s mnogim bolestima unutar i izvan GI trakta te s disbiozom crijeva (MINAMOTO i sur., 2019.). Promjene unutar mikrobioma crijeva mogu biti izrazito važne, ali one ne odražavaju promjene u njegovoj funkciji kao što je: proizvodnja kratkolančanih masnih kiselina, dekonjugacija, dehidroksilacija žučne kiseline, proizvodnja neurotransmitera (GABA, serotonin) i protuupalnih spojeva (indol). Također, prehrana može igrati vrlo bitnu ulogu te utjecati na metabolite bakterija koji zatim utječu na organe poput mozga, kože ili mišića (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.).

**Tablica 2.** Taksonomski prikaz bakterija u crijevnom mikrobiomu pasa

(Izvor: PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.)

KOLJENO	RAZRED	PORODICA	ROD/VRSTA
<i>Actinobacteria</i>	<i>Coriobacteriia</i>	<i>Coriobacteriaceae</i>	<i>Collinsella</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Prevotellaceae</i> <i>Bacteroidaceae</i>	<i>Prevotella</i> <i>Bacteroides</i>
<i>Firmicutes</i>	<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiaceae</i> <i>Ruminococcaceae</i>	<i>Clostridium</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>prausnitzii</i>
	<i>Bacilli</i>	<i>Peptostreptococcaceae</i> <i>Lachnospiraceae</i> <i>Veillonellaceae</i> <i>Streptococcaceae</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Turicibacteraceae</i>	<i>Peptostreptococcus</i> <i>Blautia</i> <i>Megamonas</i> <i>Streptococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Turicibacter</i>
<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteriia</i>	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i> <i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Alcaligenaceae</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Sutterella</i> <i>E. coli</i>

#### 4. RAZVOJ MIKROBIOMA

Većina istraživanja koja su provedena na sisavcima novorođenčadi navode kako kontakt s okolišem i mikroorganizmima majke utječe na ranu kolonizaciju crijeva dojenčadi (PALMER i sur., 2007.). Ovu činjenicu podržavaju istraživanja koja dokazuju povezanost između sastava mikrobioma crijeva dojenčeta i samog porođajnog kanala kod ljudi. Jedinke koje su rođene prirodnim, vaginalnim, putem imaju mikrobne zajednice u kojima dominiraju *Lactobacillus spp.* i *Bifidobacterium spp.* (DOMINGUEZ-BELLO, 2010.). Ove mikrobne zajednice slične su onima koje se nalaze u vaginalnom kanalu majki. Nasuprot tome, dojenčad koja je rođena carskim rezom sadrže mikrobne zajednice koje sadržavaju kožne mikroorganizme s dominacijom *Staphilococcus*. Neonatalno stjecanje crijevnog mikrobioma ovisi o organizmima s kojima se jedinke susreću u prvim satima i danima života (okoliš, majka), kao što pokazuju ova

istraživanja. Kod novorođenčadi koja je rođena carskim rezom, djelomična obnova mikrobioma postignuta je izlaganjem jedinke vaginalnoj tekućini majke prilikom rođenja (DOMINGUEZ-BELLO, 2016.). Mikrobiom kože, usne šupljine i crijeva kod ove dojenčadi bio je bogat zajednicama bakterija koje su sličile vaginalno rođenim jedinkama. Kod ljudi tijekom trećeg tromjesečja trudnoće crijevni mikrobiom prolazi kroz velike promjene, čime posljedično dolazi do smanjenja raznolikosti crijevne zajednice s povezanim sistemskim upalnim i metaboličkim posljedicama koja sliče metaboličkom sindromu (KOREN i sur., 2012.). Zanimljiva je činjenica da crijevni mikrobiom novorođenčadi više nalikuje mikrobiomu majke u prvom tromjesečju trudnoće te da nemaju tendenciju nasljeđivanja tih promjena u sastavu mikrobioma svojih majki (BARKO i sur., 2018.).

Mikrobiom osim što ima ulogu u prilagodbi na sastav obroka, on je također uključen u niz drugih razvojnih procesa. Istraživanja koja su nedavno provedena na laboratorijskim životinjama ukazuju na postojanje veze između crijevnog mikrobioma i razvoja imunološkog sustava, crijevnog epitela i mozga te drugih tjelesnih sustava organizma (SOMMER i BACKHED, 2013.). Također, negativna iskustva prisutna u djetinjstvu se odražavaju i imaju važan utjecaj na razvoj crijevne zajednice. Na abnormalni razvoj crijevne zajednice veliku ulogu igra zdravstveni status majke, kvaliteta njezina mlijeka, primjena antibiotika, prijevremeni porod te pothranjenost. Pothranjenost je u bliskoj vezi s disbiozom koja je otporna na nutricionističko liječenje, a dovodi do trajne mikrobne nezrelosti crijeva. Unatoč činjenicama da abnormalni razvoj mikrobioma crijeva ima posljedice na zdravlje domaćina koje su dugoročne, uzroci tih bolesnih stanja još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni (BARKO i sur., 2018.).

Do sada je postoje ograničena saznanja o samom razvoju crijevnog mikrobioma kod pasa i mačaka. Ova tema je ograničena na svega nekoliko istraživanja koja su provedena na štenadi i mačićima. Sam razvoj mikrobioma je vrlo individualan, kao i kod ljudi, te na njega utječu razni faktori, što su potvrdili i rezultati ovih istraživanja. Također, brojnost bakterija *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* je opadala s dobi, dok su se *Bacteroides* i bakterijski geni povezani s metabolizmom složenih ugljikohidrata povećavali, što je slično kao i kod ljudi. Jedno je istraživanje utvrdilo da je u crijevnom mikrobiomu mačića u dobi između 8. i 16. tjedana starosti bilo vidljivo malo promjena, dok drugo istraživanje nije utvrdilo veće promjena u taksonomiji bakterija kod mačića u razdoblju od 30. i 42. tjedana starosti (DEUSCH i sur., 2014.). Samo je

jedno istraživanje upotrijebilo metodu sekvenciranja DNK za istraživanje mikrobioma u štenadi te je utvrdilo da su privremena nestabilnosti i individualna raznolikost također značajke fekalnog mikrobioma štenaca (BARKO i sur., 2018.).

## 5. ODRŽAVANJE I STABILNOST GASTROINTESTINALNOG MIKROBIOMA

Zreli ljudski crijevni mikrobiom karakterizira sastavna i funkcionalna raznolikost te dugotrajna stabilnost, što se razlikuje od mikrobioma dojenčeta (LOZUPONE i sur., 2012.). Ova obilježja mikrobioma kod odraslog čovjeka odražavaju se i na odrasle pse i mačke. Na sastav i funkciju crijevnog mikrobioma, kao i na njegovu dugoročnu stabilnost i otpornost na promjene, utječu razni čimbenici kao što su nasljeđe, prehrana, liječenja i razni drugi. Mnoga istraživanja su otkrila da su u izmetu pasa, kao i kod ljudi, dominantne bakterijske vrste *Firmicutes* i *Bacteroidetes* (MIDDELBOSS, 2008.). Također, *Clostridium* čini dominantan rod s brojnošću bakterija u rasponu 7-22 % (GARCIA MAZCORRO i sur., 2012.). Neka istraživanja u pasa su utvrdila da su u izmetu *Fusobacteria* zastupljene u velikom broju, dok su druga istraživanja otkrila da je *Fusobacteria* najzastupljeniji tip ili je bila prisutna u kodominaciji s *Firmicutes* i *Bacteroidetes* (HAND i sur., 2013.). Povećanje broja *Fusobacteria* kod pasa, za razliku od ljudi, još uvijek nije u potpunosti jasno, iako su pripadnici ovog roda povezani s upalnom bolešću crijeva (IBD) i kolorektalnim karcinomom u ljudi. Nasuprot tome, psi s IBD-om imaju niži broj *Fusobacteria* za razliku od zdravih pasa (VAZQUEZ-BAEZA i sur., 2016.).

Mačke kao obavezni mesožderi nemaju velike zahtjeve za složenim ugljikohidratima, ali unatoč tome njihov mikrobiom debelog crijeva je po sastavu dosta sličan mikrobiomu pasa i drugih sisavaca. Kod pasa proteolitičke bakterije čine otprilike 7,9-14 % udjela mikrobioma debelog crijeva. Također, kod pasa i mačaka prisutna je razlika u sastavu mikrobioma obzirom o kojem segmentu crijeva je riječ. Kod pasa *Lactobacillus* je ravnomjerno raspoređen po cijelom traktu, dok je zastupljenost *Enterobacteriales*, *Fusobacteriales* i *Clostridiales* oscilirala. *Enterobacteriales* su najviše bile prisutne u tankom crijevu pasa, dok su *Clostridiales* dominirale jejunumom i duodenumom (SUCHODOLSKI i sur., 2008.). Za razliku od njih *Fusobacteriales* i

*Bacteroidales* su bile najviše zastupljene u ileumu i debelom crijevu pasa (RITCHIE i sur., 2008.).

Utjecaj genetike domaćina na sastav njegovog mikrobioma još nije u potpunosti jasan, ali je dokazano da je mikrobiom crijeva sličniji kod genetski srodnijih pasa za razliku od onih pasa koji nisu genetski srodni (HAND i sur., 2013.). Međutim, istraživanja koja su provedena na ljudima, uključujući i ona provedena na jednojajčanim i dvojajčanim blizancima, upućuju na to da crijevni mikrobiom srodnih pojedinaca nije bio ništa sličniji od onih pojedinaca koji nisu povezani, a nalaze se unutar iste zemljopisne regije (YATSUNENKO i sur., 2012.). Dodatno, utvrđeno je da se ljudi iz različitih geografskih regija mogu razlikovati jedini od drugih na temelju sastava mikrobioma i njegovih genomskih značajki. Ali isto tako, istraživanja upućuju na bitan utjecaj prehrane, koja ima važan utjecaj na strukturu i funkcionalni značaj mikrobioma, te okoliša za dugoročno stabilno stanje crijevnog zajednice (MUEGGE i sur., 2011.).

Analizom metagenoma crijevnog mikrobioma kod pasa utvrđena je funkcionalna sličnost s ljudima i miševima. Bakterije koje prevladavaju u crijevima pasa uključene su u metabolizam bjelančevina i aminokiselina, metabolizam ugljikohidrata, sintezu stanične stijenke, vitamina i kofaktora te sintezu nukleinskih kiselina (SWANSON i sur., 2011.). Zajednička značajka koja se javlja kod ljudskog, psećeg i mačjeg genoma mikrobioma su geni za virulentnost i otpornost na antibiotike. Isto tako, funkcionalne porodice gena se značajno ne razlikuju kod pasa koji su hranjeni hranom s visokim i niskim sadržajem vlakana, kao ni kod onih zdravih ili onih s crijevnim disbiozom. Međutim, metode kao što su sekvenciranje i statističke metode nisu dovoljno osjetljive kako bi otkrile male, ali potencijalno važne promjene u metagenomu. U nekim budućim istraživanjima metodu sekvenciranja, koja je šire prirode, mogla bi upotpuniti qPCR za otkrivanje bioloških relevantnih promjena u ekspresiji mikrobnih gena (BARKO i sur., 2018.).

Na stabilnost zajednice crijevnog mikrobioma, osim prehrane i okoliša, također utječu i medicinska liječenja. Primjenom ciprofloksacina u ljudi dolazi do smanjenja taksonomske raznolikosti i bogatstva zajednice. Ako dođe do prekida uzimanja lijekova, mikrobiom se samo djelomično oporavi, čime zatim dolazi do pojave novog sastava mikrobioma koji se razlikuje od onog prethodnog. U pasa prilikom primjene makrolida dolazi do promjene sastava mikrobioma koje se očituje u smanjenju crijevnog raznolikosti. Osim antibiotika, i drugi lijekovi također mogu

utjecati na bakterije unutar GI trakta pasa. Prilikom primjene inhibitora protonske pumpe, kao što je omeprazol, posljedično dolazi do smanjenja *Helicobacter* i povećanja broja *Firmicutes* i *Fusobacteria* u želucu pasa. Uz to, davanje omeprazola povezuje se s porastom broja duodenalnih bakterija i *Lactobacillus*, a smanjenjem *Faecalibacterium* i *Bacteroides* (GARCIA-MAZCORRO i sur., 2012.).

Sva ova provedena istraživanja ukazuju nam na to da mikrobiom crijeva pasa, mačaka i odraslih ljudi odlikuje dugotrajna stabilnost i funkcionalna raznolikost. A osim toga, komunikacija između samog domaćina i crijevnog mikrobioma utječe na fiziološke procese koji se odvijaju unutar domaćina (BARKO i sur., 2018.).

## **6. UTJECAJ PREHRANE NA MIKROBIOM PASA**

Oko 95 % posto tržišta hrane za pse čini ekstrudirana hrana te je većina istraživanja provedenih na psima istraživala učinak te hrane na crijevni mikrobiom. Ekstrudirana hrana u svom sastavu ima visoki udio ugljikohidrata, ali su također dostupne i opcije s visokim udjelom bjelančevina i niskim udjelom ugljikohidrata. Danas se mali, ali ipak rastući, broj pasa hrani kuhanim obrokom, međutim, sve je više popularna i sirova prehrana, smrznuta ili liofilizirana koja se temelji na nusproizvodima životinjskog podrijetla i niskim udjelima ugljikohidrata (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.).

Mnoga istraživanja su pokazala kako profil crijevnog mikrobioma odgovara vrsti hrane koju životinja unosi, što se posebno ističe kod mesojeda i biljojeda zbog velike razlike u omjeru makronutrijenata. Kod svejeda, uključujući i ljude, možemo primijetiti kako kratak period konzumacije namirnica isključivo biljnog ili životinjskog podrijetla može u potpunosti promijeniti strukturu crijevnog mikrobioma. Kod ljudi koji konzumiraju namirnice životinjskog podrijetla zamijećen je povećani unos masti i bjelančevina te smanjeni unos vlakana na gotovo nulu. Takve promjene uzrokuje smanjenje broja *Firmicutes*, za koje je poznato da metaboliziraju polisaharide biljaka, te povećanje mikroorganizama koji su otporni na žuč. Kod crijevnog mikrobioma pasa sastojci hrane imaju manji značaj od ukupnog sadržaja makronutrijenata koju

unesu u svoj organizam. Jedno istraživanje pokazalo je kako ekstrudirana hrana, koja je sadržavala isključivo biljne bjelančevine, nije značajno utjecala na promjenu mikrobioma pasa u usporedbi s tradicionalno pripremljenom hranom (biljni i životinjski izvor bjelančevina) koja je sadržavala sličan sadržaj makronutrijenata (BRESCIANI i sur., 2018.).

Provedeno je istraživanje na zdravim psima koje je obuhvaćalo četiri različite vrste dijeta koje su imale različit sastav makronutrijenata: hrana sa niskim udjelom masti, hrana za gubitak tjelesne mase, hrana na bazi hidroliziranih bjelančevina i hrana namjenjena psima sa kroničnim zatajenjem bubrega. Dijeta namijenjena gubitku tjelesne mase se najviše razlikovala po sastavu makronutrijenata jer je imala više vlakana i bjelnačevina te je rezultirala najvećim promjenama u mikrobnj zajednici. Zabilježen je značajan porast broja *Fusobacteria* zbog povećanog udjela bjelančevina te je također broj bakterija koje proizvode kratkolančane masne kiseline, *Bacteroides*, *Prevotella* i *Faecalibacterium*, bio u porastu (Tablica 3). Broj bakterija *Fecalibacterium* se povećao kod pasa hranjenih hranom s niskim udjelom masti. Dijeta za gubitak tjelesne mase i dijeta s niskim udjelom masti sadržavala su topiva i netopiva vlakna te je povećanje tih bakterija vjerojatno povezano s većim brojem i različitim vrstama vlakana (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.).

**Tablica 3.** - Glavni učinci različitih vrsta vlakana u fekalnom mikrobiomu i metabolomu pasa (Izvor: PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.)

Vrsta vlakana	Glavni nalaz	Metoda	Literatura
Repina pulpa	↓ <i>Erysipelotrichi</i> , <i>Fusobacteria</i> ↑ <i>Firmicutes</i> , <i>Clostridia</i>	Sekvenciranje 16S rRNA	Middelbos i sur., 2010.
Fruktani tipa Inulina	↑ <i>Firmicutes</i> , <i>Erysipelotrichaceae</i> , <i>Turicibacteraceae</i>	Sekvenciranje 16S rRNA	Alexander i sur., 2018.
Inulin	↓ <i>Enterobacteriaceae</i> ↑ <i>Megamonas</i> , <i>Lactobacillus</i>	Sekvenciranje 16S rRNA	Beloshapka i sur., 2013.

Vlakna krumpira	↓ <i>Prevotella</i> , <i>Fusobacterium</i> ↑ <i>Faecalibacterium</i> , <i>Lachnospira</i> , fekalni acetat, butirat i propionat	Sekvenciranje 16S rRNA	Panasevich i sur., 2013; Panasevich i sur., 2015.
Ljuske soje	↓ <i>Clostridium cluster XI</i> ↑ Ukupni laktobacili, <i>Faecalibacterium</i> , <i>Bacteroides-Prevotella-</i> <i>Porphyromonas</i> i <i>Clostridium</i> <i>cluster XIVa</i>	qPCR	Myint i sur., 2017.
Stanična stijenka kvasca	↑ <i>Bifidobacterium</i>	Sekvenciranje 16S rRNA	Beloshapka i sur., 2013.

Sirova prehrana temeljena na mesu se obično razlikuje u sastavu makronutrijenata u usporedbi s kontrolnom dijetom koja sadrži visoki udio bjelančevina te nizak udio ugljikohidrata i vlakana. Nekoliko provedenih studija istraživalo je utjecaj sirove prehrane na crijevni mikrobiom zdravih pasa. Rezultati tih istraživanja pokazali su ukupno smanjenje *Firmicutes* i *Bacteroidetes*. To su bakterije koje su povezane s proizvodnjom kratkolančanih masnih kiselina, što ukazuje na smanjenje fermentacije ugljikohidrata zbog njihovog smanjenog unosa. Bakterije koje su povezane s razgradnjom bjelančevina, kao što su *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, bile su u suvišku. Jedno istraživanje koje je provedeno na šest zdravih pasa hranjenih sirovom prehranom dulje od godinu dana utvrdilo je povećan broj *Clostridium perfringens* i *Fusobacterium varium* te povećanu ukupnu raznolikost crijevnog mikrobioma (Tablica 4). Ove bakterije proizvode butirat iz bjelančevina, što nam ukazuje na prilagodbu mikrobioma prehrani pasa (SCHMIDT i sur., 2018.).

Broj bakterija *Clostridiaceae* može biti povezan s GI bolestima. Kod pasa hranjenih hranom bogatom bjelančevinama njihov broj može biti povećan. Međutim, to ne mora biti štetno za njihovo zdravlje već se uglavnom povezuje s razgradnjom bjelančevina (BRRMINGHAM i sur., 2017.).

*Clostridium hiranonis* je bakterija koja je često prisutna u malom broju kod pasa nakon liječenja antibioticima te kod pasa s GI bolestima. Ona je povezana s normalnim metabolizmom

žučnih kiselina te je ustanovljeno kako se njezin broj povećava kod dijeta s visokim udjelom bjelančevina. Metabolizam žučnih kiselina važan je za probavu lipida, regulaciju crijevnih upala te se obično mijenja kod kroničnih GI bolesti. Kod pasa hranjenih sirovom hranom, jedno je istraživanje utvrdilo normalan metabolizam žučne kiseline (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.).

*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* i *Faecalibacterium* smatraju se korisnim bakterijama kod svejeda te se njihova uloga očituje u fermentaciji ugljikohidrata čime nastaje butirat. Butirat predstavlja najveći izbor energije za kolonocite te ga možemo naći u uzorcima izmeta sisavaca bez obzira na vrstu njihove prehrane. Kod sisavaca koji ne konzumiraju ugljikohidrate ili ih konzumiraju u vrlo malim količinama moraju postojati alternativni putevi za proizvodnju butirata. Jedno istraživanje provedeno na psima dokazalo je kako proizvodnja kratkolančanih masnih kiselina ne ovisi samo o sadržaju ugljikohidrata. U istraživanju se uspoređivala prehrana s visokim udjelom masti te prehrana s visokim udjelom škroba. Rezultati su pokazali kako se razina acetata, butirata i propionata nisu razlikovale kod pasa kod pasa hranjenih objema dijetama. Podržavajući tu hipotezu, drugo istraživanje je dokazalo kako je dodavanje mljevenog mesa suhoj hrani dovelo do malog povećanja fekalnih butirata u uzorku (SCHAUF i sur., 2018.).

Jedno istraživanje koje je nedavno provedeno otkrilo je kako su kod mesoždera *Clostridiaceae*, a posebice *C. perfringens* povezane s butirat kinazom koja omogućuje proizvodnju butirata iz bjelančevina. Također, utvrđeno je kako je još jedna bakterija, *F. varium*, povezana s proizvodnjom butirata iz istog izvora. Ova bakterija bila je prisutna u velikom broju kod pasa koji su više od godinu dana hranjeni sirovom prehranom temeljenom na mesu. Provedeno istraživanje nam ukazuje kako se crijevni mikrobiom prilagođava dugotrajnoj prehrani domaćina. No, osim toga, dokazano je kako su članovi porodice *Fusobacteriaceae* u većem broju zastupljene kod drugih vrsta mesojeda, kao što su vukovi i mačke, te kod pasa hranjenih sirovom prehranom bogatom bjelančevinama (BERMINGHAM i sur., 2017.). Jedan od razloga povećanja broja pasa hranjenih sirovom prehranom je pretpostavka da kod mesojeda proizvodnju butirata djelomično mogu postići i druge bakterijske vrste, kao što su pripadnici *Clostridiaceae* i *Fusobacteriaceae* (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.).

Još jedan metabolit na koji može utjecati prehrana, a koji je dobiven putem bakterije je neurotransmitter GABA i njegov prekursor gama-hidroksimaslačna kiselina. Prehrana bazirana na nusproizvodima životinjskog podrijetla u sirovom obliku povećava fekalne razine GABA i

njezinog prekursora, što je utvrđeno također kod ketogene dijeta provedene na miševima. Uspoređujući ove dvije dijeta postoji mogućnost da visoki sadržaj masti i nizak udio ugljikohidrata dovodi do ovih promjena. GABA i njezin prekursor primijenjeni oralno vrlo se brzo apsorbiraju iz GI trakta. Fermentirana hrana koja obiluje bakterijama koje proizvode GABA (*Lactobacillus* i *Bifidobacterium*) dostupna je u Japanu te se koristi za liječenje hipertenzije kod ljudi. Povećanje broja *Lactobacilles* i *Streptococcus*, bakterija mliječne kiseline, koje proizvode GABA utvrđeno je kod prehrane bazirane nusproizvodima životinjskog podrijetla u sirovom obliku. Tijekom raznih istraživanja koja su proučavala spregu mozga i crijeva kod bolesnih pasa, utvrđeno je kako su ketogene dijeta korisne za pse s neurološkim bolestima. Također, nedavne studije pokazale su kako ketogene dijeta utječu na sastav crijevnog mikrobioma, što bi mogao biti jedan od mehanizama kojim bi se smanjila učestalost pojave neuroloških simptoma (MA i sur., 2018.).

**Tablica 4.** - Sažetak nalaza iz studija koja su istraživala učinak visokoproteinskih dijeta na crijevni mikrobiom pasa (Izvor: PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.)

Vrsta dijeta	Glavni nalaz	Vrijeme provedeno na dijete	Literatura
Prehrana bazirana na nusproizvodima životinjskog podrijetla u sirovom obliku (BARF)	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Faecalibacterium</i> <i>Fusobacteria</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Clostridium</i>	4 tjedna do 9 godina	Schmidt i sur., 2018.
Crveno meso	<i>Faecalibacterium</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i> <i>Fusobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Clostridium</i>	9 tjedana	Birmingham i sur., 2017.
Sirova prehrana	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium hiranonis</i> , <i>Dorea</i> , <i>Fusobacterium</i>	Najmanje godinu dana	Kim i sur. 2017.

	<i>varium</i>		
Peletirana hrana s okusom govedine	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> <i>Clostridium hiranonis</i> , <i>Dorea</i> , <i>Slackia</i> , <i>Clostridiaceae</i>	1 tjedan	Herstad i sur., 2017.

## 7. UTJECAJ INTERAKCIJE MIKROBA I DOMAĆINA NA POJAVU DISBIOZE I BOLESNIH STANJA

Drevna izreka, ‘Sve bolesti započinju u crijevima’, koju je izrekao Hipokrat u 3. stoljeću prije nove ere održala se sve do danas. Uloga crijevnog mikrobioma je sudjelovanje u imunološkim i vitalnim fiziološkim procesima uključujući energetske homeostazu i metabolizam, endokrinu signalizaciju, prevenciju kolonizacije enteropatogena, sintezu vitamina i drugih hranjivih tvari, regulaciju imunološkog sustava i metabolizam ksenobiotika. Još uvijek nije u potpunosti jasno sudjeluje li mikrobiom u patogenezi mnogih gastrointestinalnih i sistemskih bolesti koje su povezane sa zajednicama crijevnog mikrobioma. Međutim, sve veći broj provedenih istraživanja ukazuje na sudjelovanje mikrobioma izravno u patogenezi raznih bolesti zbog složenih interakcija između njega te metaboličkih i imunoloških sustava domaćina. U daljnjim odlomcima ćemo se osvrnuti na utjecaj GI trakta na zdravlje domaćina, stavljajući naglasak na pretilost i kronične enteropatije (BARKO i sur., 2018.).

Svaki dio crijeva posjeduje svoju vlastitu mikrobnu zajednicu koja je prilagođena okolišu unutar kojega se nalazi. Te se zajednice međusobno razlikuju s obzirom na duljinu i širinu gastrointestinalnog trakta te sloja sluzi unutar kojega su smještene. Proksimalno tanko crijevo nije toliko imunološki aktivno kao ileum i debelo crijevo. U kriptama tankog crijeva mikrobiom utječe na proliferaciju enterocita tako što djeluje na replikaciju DNK i ekspresiju gena. Dok mikrobiom na vrhovima resica sudjeluje u regulaciji ekspresije gena koji su uključeni u metaboličku i imunološku funkciju (OLSZAK i sur., 2012.). Panethove stanice i enterociti zauzvrat djeluju na proizvodnju sluzi i antibakterijskih faktora tako što potiču bakterije na njihovu proizvodnju (PELASEYED i sur., 2014.). Urođeni i adaptivni imunološki odgovori

djeluju tako da spriječe naseljavanje patogena te usmjeravaju lokalne i sustavne upalne odgovore na područje koje je izloženo stranim mikrobnim i prehrambenim antigenima.

Limfoidno tkivo povezano s crijevima (GALT) predstavlja glavni dio imunološkog sustava i obrane. Ovisno o specifičnim signalima mikroba, limfni folikuli koji sadrže T-stanice, B-stanice i dendritičke stanice spremni su pokrenuti upalni ili protuupalni odgovor. Antigeni unutar lumena budu uzorkovani od strane specijaliziranih epitelnih stanica (M stanica) te ih one dostavljaju dendritičkim stanicama na procjenu. Za razvoj tolerancije na komenzale te za održavanje integriteta crijeva važnu ulogu mogu imati i urođene limfoidne stanice. Osim toga, mikrobi imaju jako važnu ulogu u razvoju GALT-a što se dokazuje izrazito nerazvijenim limfoidnim folikulima, Peyerovim pločama i mezenterijalnim čvorovi kod životinja (STEPANKOVA i sur., 1980.).

Nakon što mikroorganizam bude prepoznat od strane organizma zahvaljujući receptorima koji su smješteni u i na epitelnim stanicama crijeva, dolazi do pokretanja imunološkog odgovora domaćina. Mikroorganizmi mogu izlučivati zaštitne i patogene faktore. Zaštitni faktori imaju ulogu u snižavanju protuupalnih citokina, kao što su IL-8, IL-12 i IL-23 te povećanju protuupalnih citokina, kao što je IL-10, koji proizvodi T regulatorne stanice (Treg) (UNDERWOOD, 2014.). Dendritičke stanice prezentiraju antigen naivnim T stanicama koje se nakon toga diferenciraju u Treg stanice i započinje lučenje protuupalnih citokina koji se tada šire sistemski i lokalno. Komenzali potiču proizvodnju zaštitnog sloja sluzi i diferencijaciju vrčastih stanica te također smanjuju migraciju fagocita koji prenose mikrobnih antigene u lokalna limfoidna tkiva kako bi potaknuli aktivaciju B- i T-stanica (WRZOSEK i sur., 2013.). Nasuprot tome, patogene bakterije potiču lučenje protuupalnih citokina, od strane dendritičkih stanica, koji uzrokuju diferencijaciju naivnih T stanica u Th1 i Th17 stanice, čime dolazi do protuupalnog imunološkog odgovora (PABST i sur., 2006.).

Nedavno provedena istraživanja otkrivaju kako je mikrobiom crijeva važan sudionik u sustavnom metabolizmu domaćina. Također, istraživanje koje je bilo provedeno na miševima dokazalo je kako je mikrobiom u komunikaciji s otprilike 10 % metaboličkih puteva domaćina te da brojni metaboliti iz plazme potječu isključivo iz crijevnog mikrobioma. U drugom istraživanju koje je provedeno na psima s akutnim proljevima utvrđena je fekalna disbioza te promijenjeno metaboličko stanje, čime se dokazuje već spomenuta povezanost mikrobioma i

metabolizma domaćina (GUARD i sur., 2015.). Treće istraživanje provedeno je na psima s IBD-om i zdravom kontrolnom skupinom. Kod bolesnih pasa utvrđene su promjene u crijevnom mikrobiomu i serumskim metabolitima za razliku od zdravih pasa (MINAMOTO i sur., 2015.). Također, psi s IBD-om su poboljšali svoje kliničko stanje nakon liječenja, no to nije bilo praćeno promjenama u mikrobiomu ili metabolitima u serumu (BARKO i sur., 2018.).

Mikrobni metaboliti imaju ulogu u fermentaciji složenih ugljikohidrata (škrob, inulin) od čega nastaju kratkolančane masne kiseline, uključujući acetat, propionat i butirat. Kratkolančane masne kiseline predstavljaju važan izvor energije za kolonocite, stimuliraju proizvodnju protuupalnih spojeva, održavaju barijeru epitela te pomažu u regulaciji crijevnog motiliteta. Osim toga, stimuliraju imunološki odgovor sluznice, djelujući na neutrofile smanjuju njihovu migraciju čime dolazi do regulacije upale, te također ograničavaju kolitis u eksperimentalnim modelima životinja (SMITH i sur., 2013.).

Na zdravlje domaćina veliku ulogu ima raznolikost crijevnog mikrobioma, dok je gubitak raznolikosti povezan s nizom GI i sustavnih bolesti. Ako dođe do pojave crijevne disbioze, ono nam ukazuje da su prisutne promjene u mikrobiomu koje se nepovoljno odražavaju na zdravlje domaćina. Disbiozu karakteriziraju smanjenje raznolikosti vrsta unutar zajednice, veliki pomaci u sastavu mikrobioma te promjene u relativnom udjelu pojedinih organizama, pri čemu simbiotički koji normalno predstavljaju mali udio mikrobioma razvijaju patogene značajke. Također, još jedna od karakteristika disbioze je smanjenje udjela obaveznih anaeroba i povećanje fakultativnih anaeroba (*E.coli*, *Salmonella*, *Proteus*, *Klebsiella* i *Shigella*). Ona ne uključuje uvijek patogene mikroorganizme jer odsutnost važnih komenzala može biti štetna i bez prisutnosti patogenih organizama (BARKO i sur., 2018.).

Istraživanja provedena na štakorima i miševima ukazuju da mikrobiom ima vrlo bitnu ulogu u početku i napretku upale sluznice crijeva. Upala sluznice i disbioza međusobno su povezane te postoji jako puno podataka koje upućuju da je upala uzrok disbioze, njezina posljedica ili kombinacije toga. Kod ljudi mnogi geni koji su povezani s IBD-om su važni za regulaciju komunikacije između domaćina i mikroba. Osim toga, dokazano je kako prijenos crijevnog mikrobioma sa životinja s IBD-om na zdrave jedinice povećava osjetljivost zdravih životinja za razvoj IBD-a (GARRET i sur., 2010.). Disbiozu crijeva odlikuje smanjena raznolikost te smanjenje relativnog udjela vrsta koje karakterizira proizvodnja kratkolančane

masne kiseline. U novije vrijeme, disbioza crijeva se opisuje kao promjena u mikrobiomu koja je povezana s bolesnim stanjima ili s drugim stanjima, kao što je davanje antibiotika. Ona je značajka niza enteropatija, međutim broj istraživanja je relativno mali te se iz tih podataka ne može utvrditi univerzalni obrazac disbioze (BARKO i sur., 2018.).

Većina istraživanja pasa s disbiozom koja su provodila sekvenciranje utvrdile su smanjeni broj *Bacteroidetes*, povećanje *Clostridia* i *Proteobacteria* te širenje onih organizama koji su u manjem broju unutar mikrobiomne zajednice. Također, kod pasa s IBD-om utvrđena je znatno niža raznolikost mikrobioma u usporedbi sa zdravim psima. Međutim, nije bilo podudarnosti s prehranom niti tjelesnom težinom životinja (VAZQUEZ-BAEZA i sur., 2016.).

Tijekom brojnih provedenih istraživanja utvrđena je veza između metaboličkog sindroma i pretilost te određenih oblika disbioze crijeva kod ljudi, laboratorijskih životinja i kućnih ljubimaca. U veterinarskoj i humanoj medicini, pretilost predstavlja poseban oblik izazova, a alati za liječenje i prevenciju u velikoj su potražnji. Pretpostavka je da se uzroci nastanka pretilosti kriju u prikupljanju energije iz prehrane, mikrobima koji izazivaju promjene u metabolizmu glukoze i lipida domaćina, signalizaciji mikroba kroz endokrini sustav te kroničnim upalama niskog stupnja koje dovode do inzulinske rezistencije (LEY, 2010.).

U nedavnim istraživanjima na miševima utvrđeno je kako kod pretilih miševa dolazi do pojave disbioze koju obilježava povećani omjer *Firmicutes* naspram *Bacteroidetes* u usporedbi s mršavim miševima (TURNBAUGH i sur., 2006.). Također, sekvenciranjem uzoraka izmeta pretilih ljudi utvrđeno je kako je ljudska pretilost povezana s nižom brojnošću fekalnih bakteroida te da je gubitak težine povezan s proporcionalnim povećanjem bakteroida. Osim toga, istraživanje na mačkama je ustanovilo kako pretile mačke također imaju niži broj bakteroida što je dokazano kod umjereno i jako pretilih mačaka. Ove činjenice pokazuju kako se promjene unutar mikrobioma mogu pojaviti i prije kliničke manifestacije pretilosti (BARKO i sur., 2018.).

Kod ljudi i laboratorijskih životinja razna stanja, kao što su neurorazvojni poremećaji (poremećaj autističnog spektra), imunološki posredovana stanja (reumatoidni artritis, astma, atopijski dermatitis) i razna druga su povezana s disbiozom crijeva (ARRIETA i sur., 2014.). Za razliku od ljudi i laboratorijskih životinja, ova povezanost nije utvrđena kod malih životinja. Unatoč tome što nedostaje točnih podataka o vezi mikrobioma s patogeneozom ovih stanja,

postoje jasne veze između sustavnog zdravlja domaćina i crijevnog mikrobioma (BARKO i sur., 2018.).

## **8. UTJECAJ PREHRANE NASPRAM BOLESTI NA MIKROBIOM CRIJEVA**

Iako prehrana utječe na sastav mikrobioma i utječe na razne metaboličke puteve, te promjene su svakako puno manje nego one koje nastaju kao posljedica bolesti. Kod bolesnih životinja, osobito onih s GI bolestima kao što su kronične enteropatije, dolazi do promjena u raznolikosti mikrobiomne zajednice. Karakterizira ih smanjenje vrsta kao što su *C. hiranosis*, *Fusobacterium spp.* i *Faecalibacterium praunitzuu* (GUARD i sur., 2019.). Prehrana kao takva ima važnu ulogu u poticanju zdrave i otporne crijevne zajednice te je mala vjerojatnost da će izazvati promjene kao što su utvrđene kod pojave bolesti. Za ublažavanje kliničkih znakova bolesti najčešće se koristi kombinacija prebiotika, probiotika i promjena prehrane. Promjene kod proljeva koje nastaju unutar mikrobioma su opsežne te su praćene i s funkcionalnim izmjenama unutar crijevnog trakta. Mijenja se pokretljivost crijeva koja zatim mijenja okoliš crijeva i dodatno utječe na sastav samog mikrobioma (PILLA i SUCHODOLSKI, 2020.). Kod pasa s proljevom koji reagira na hranu važnu ulogu mogu imati hipoalergene dijetete koje smanjuju imunogenost i olakšavaju probavu. Osim toga, probiotici i prebiotici također imaju važno djelovanje. Prebiotička vlakna pomažu u oporavku populacije korisnih bakterija i obnavljaju proizvodnju kratkolančanih masnih kiselina, dok oni probiotici koji sadržavaju korisne bakterijske vrste također mogu pomoći u oporavku. Probiotici proizvode korisne metabolite koji pomažu poboljšanju kliničkih znakova te imaju zaštitni učinak na izbijanje akutnog proljeva. Osim toga, korisno djeluju na homeostazu sluznice i ubrzavaju remisiju bolesti kod pasa s kroničnim proljevom (WHITE i sur., 2018.).

## 9. UTJECAJ TERAPEUTSKOG LIJEČENJA NA CRIJEVNI MIKROBIOM

Cilj terapijskog liječenja crijevnog mikrobioma je promijeniti mikrobnu zajednicu iz njezinog narušenog u stabilan oblik. Ovaj oblik liječenja sastoji se od promjene prehrane, uzimanja prebiotika, probiotika ili antibiotika te se u novije vrijeme sve više koristi i transplantacija fekalnog mikrobioma. Nekoliko provedenih istraživanja upućuje na poboljšanje kliničkih znakova nakon primjene različitih mikrobnih pripravaka. Tumačenje nalaza tih istraživanja predstavlja izazov jer promjene u mikrobiomu ne moraju nužno dovesti do poboljšanja kliničkih znakova, a poboljšanje kliničkog stanja se također može dogoditi i bez vidljivih promjena u samom mikrobiomu crijeva (BARKO i sur., 2018.).

### 9.1. PREBIOTICI

Liječenje prebioticima, posebno dodatkom polisaharida biljnog podrijetla, glavni su pokazatelj liječenja usmjerenog na promjenu crijevnog mikrobioma. Prebiotici obuhvaćaju inulin, neškrobne polisaharide (prisutne u žitaricama, morskim travama i algama), disaharide (laktulozu) te polisaharide uključujući fruktooligosaharide i galaktosaharide. Razgradnjom prebiotika unutar debelog crijeva nastaju kratkolančane masne kiseline koje osiguravaju energiju i hranjive tvari za crijevni epitel. Osim toga, prebiotici štite epitel crijeva povećanjem broja epitelnih stanica i sloja sluzi, izduživanjem mikrovila te sprječavanjem prijanjanja patogenih sojeva na epitelne stanice. Uz to, snižavaju luminalni pH čime se sprječava nastanjanje specifičnih patogena unutar njega te potiču protuupalne Treg stanice (GIBSON i sur., 1999.). Također, kratkolančane masne kiseline, kao što je propionat, potiču stvaranje Treg stanica u perifernom imunološkom sustavu. Jedno istraživanje koje je nedavno provedeno na miševima upućuje da dolazi do uništavanja zaštitnog sloja od strane komenzalnih bakterija, ako nema prisutnih vlakana te se time dodatno potiče invazija patogena i komenzala (DESAI i sur., 2016.).

U jednom od nekoliko provedenih istraživanja korijen cikorije, koji predstavlja izvor inulina, je povećao bifidobakterije te smanjio *C.perfringens* u izmetu zdravih pasa te time poboljšao fekalne rezultate (ZENTEK i sur., 2003.). U drugom istraživanju koje je uključivalo preko šezdeset različitih uvjeta liječenja utvrdilo se da koncentracija kratkolančanih masnih

kiselina u izmetu raste proporcionalno s dozom prebiotika (PATRA, 2011.). Također dolazi do povećanja *Bifidobacteria* i *Lactobacillus* s povećanjem doze prebiotika, no nisu opažene promjene za patogene *C. perfringens* ili *E. coli*. Vrsta dijete koja se primjenjuje kod pasa nema utjecaj na djelovanje prebiotika, čime se dokazuje da terapije prebioticima mogu pružiti dobrobiti neovisno o vrsti prehrane. U jednom istraživanju na mačkama uočene su potencijalne dobrobiti prebiotika. Primjena pektina dovela je do povećanja razine laktobacila i koncentracije kratkolančanih masnih kiselina, dok je do smanjenja *E.coli* te povećanja bifidobakterija i koncentracije fekalnog butirata došlo nakon unosa fruktooligosaharida (BARRY i sur., 2010.).

## 9.2. PROBIOTICI

Probiotici su živi organizmi, odnosno tzv. ‘dobre’ bakterije, koji mogu imati pozitivne učinke na organizam ako se primjenjuju u odgovarajućim količinama. Djeluju tako da smanjuju crijevnu propusnost, povećavaju izlučivanje mucina od strane vrčastih stanica, povećavaju izlučivanje defenzina koji sprječava kolonizaciju patogena, proizvode kratkolančane masne kiseline, stimuliraju izlučivanje IgA, smanjuju luminalni pH te povećavaju i usmjeravaju imunološke stanice da pomiču toleranciju na komenzale dok održavaju zaštitu od patogena (GALLO., 2016.). Čak i neki neživi organizmi mogu imati zdravstvene prednosti tako što prianjaju na sloj sluzi i stimuliraju imunološke funkcije. Na primjer, polisaharid iz *Bacteroides fragilis* u miševa aktivira Treg stanice i time smanjuje ozbiljnost kolitisa. U probioticima se najčešće koriste *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, no druge bakterije koje se mogu primjenjivati su *Bacillus* i *Streptococcus* kao kvasac, te *Saccharomyces boulardii*. Kako bi ostali učinkoviti unutar probavnog sustava, probiotici moraju preživjeti kiseli okoliš želuca i žučnu kiselinu kako bi mogli kolonizirati crijeva. Smatra se da donose dobrobiti za crijeva bez trajne promjene crijevnog mikrobioma (BARKO i sur., 2018.).

Istraživanja o terapijskom učinku probiotika sežu još iz 1909. godine kada je opisano poboljšanje kod autoimunog artritisa nakon suplementacije *Streptococcus lacticus* i *Bacillus bulgaricum* (WARDEN, 1909.). Nedavna istraživanja na miševima dokazala su kako *Bifidobacterium longum subspecies longum* štiti od enteropatogene infekcije koja je izazvana *E. coli*. Većina istraživanja orijentirana su na mješavinu bakterija koje predstavljaju *Lactobacillus*,

u koje ubrajamo *L. casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*. Osim njih, usmjerena su također na *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*) te *Streptococcus salivaris* (BARKO i sur., 2018.).

U nekoliko kliničkih istraživanja na malim životinjama, probiotički dodaci bili su od velike koristi. Kod pasa s IBD-om i enteropatijom s gubitkom bjelančevina došlo je do poboljšanja kliničkih znakova nakon primijene probiotičkog soja *Saccharomyces boulardii*. Zatim, kod pasa s proljevom koji reagira na hranu primjenjen je liofiliziran *Lactobacillus* kroz 21 dan uz promjenu prehrane. Nakon završetka terapije primijećeno je povećanje *Lactobacillus*a uz smanjenje *Enterobacteria* u izmetu koje je praćeno poboljšanjem kliničkih znakova (SAUTER i sur., 2006.). Istraživanje koje je provedeno na 36 pasa s gastroenteritisom rezultiralo je poboljšanjem kliničke slike nakon primjene kombinacije probiotika. *Enterococcus faecium* SF68 je soj koji proizvodi mliječnu kiselinu te ga karakterizira da dovodi do povećanja protutijela kod miševa s *Giardiasisom*. Uz to, također smanjuje izlučivanje *Giardia* putem izmeta i ako se daje štencima dovodi do povećanja razine IgA u serumu (BENYACOUB i sur., 2005.). U jednom istraživanju ovaj lijek primijenjen u kombinaciji s metronidazolom doveo je do poboljšanja rezultata izmeta u usporedbi s psima liječenim samo metronidazolom. Kod mačića iz skloništa *E.faecium* SF68 doveo je do smanjenja fekalne *C. perfringens* i porasta bifidobakterija te je također smanjio učestalost proljeva. U drugom istraživanju koje je provedeno na mačkama, *E. faecium* smanjio je učestalost proljeva u usporedbi s placeboom (BYBEE i LAPPIN, 2011.). Kod aljaških pasa provedeno je istraživanjem u kojem je utvrđeno kako davanje simbiotika s više vrsta, koji sadrži *Enterococcus faecium*, *Bacillus coagulans* i *Lactobacillus acidophilus*, u kombinaciji s prebioticima dovodi do smanjenja učestalosti proljeva i poboljšava rezultate izmeta (GANG i sur., 2013.).

### 9.3. ANTIBIOTICI

Terapeutski učinak na mikrobiom može se postići i primjenom određenih antibiotika. U nekim istraživanjima koja su provedena na ljudima, utvrđena je poveznica između metronidazola i remisije bolesti kod pacijenata s Chronovom bolesti. Metronidazol je nitroimidazolski antibiotik i antiprotozoik koji se uglavnom primjenjuje kod malih životinja s akutnim i

kroničnim GI poremećajima. Jedno od provedenih istraživanja utvrdilo je kako metronidazol djeluje tako da smanjuje fekalnu raznolikost bakterija, ali isto tako dovodi do povećanja korisnih bakterija, kao što je *Bifidobacterium* (IGARASHI i sur., 2014.). Kod pasa s kroničnim enteropatijama, posebice proljevom koji reagira na antibiotike, obično se koristi makrolidni antibiotik tilozin. On djeluje tako da smanjuje raznolikost bakterija unutar jejunuma te povećava brojnost korisnih vrsta, kao što je *Enterococcus*. Osim toga, dovodi do porasta potencijalno patogenih bakterija, kao što su *C. perfringens*, *E. coli* i *Pasteurella*, iako psi na kojima je provedeno ovo istraživanje nisu razvili nikakve kliničke znakove. Znakovi koji se javljaju kod proljeva koji reagira na tilozin se povlače unutar prva 3 dana liječenja (KILPINEN i sur., 2015.). Kod pasa s IBD-om utvrđeno je kako rifaksim, polusintetski rifampicin sa širokim spektrom djelovanja koji podliježe minimalnoj sistemske apsorpciji, značajno poboljšava kliničke znakove (MENOZZI i sur., 2016.).

#### 9.4. TRANSPLANTACIJA FEKALNOG MIKROBIOMA

Transplantacija fekalnog mikrobioma predstavlja prijenos fecesa zdravog donora u probavni sustav, odnosno crijevni trakt, bolesnog primatelja. Put prijenosa fecesa može biti putem oralne kapsule ili klistira te putem nazogastrične, nazoduodenalne i kolonoskopske primjene. 1958. godine prijavljen je prvi zapis o liječenju kod ljudi sa pseudomembranoznim kolitisom i svi pacijenti liječeni na ovaj način su preživjeli (EISEMAN i sur., 1958.). Prilikom FMT-a dolazi do prijenosa komenzala, virusa, bjelančevina, kratkolančanih masnih kiselina, vitamina, žučnih kiselina i mnoštva drugih tvari. Na jednom istraživanju kod pasa s eozinofilnim IBD-om, gdje je provedena transplantacija fekalnog mikrobioma putem klistira, došlo je do značajnog poboljšanja te se klinički znakovi nisu pojavljivali 3 mjeseca nakon toga. Dva dana nakon FMT-a fekalni mikrobiom psa bio je sličniji zdravom darivatelju od njegovog vlastitog uzorka prije liječenja te je također bila prisutna i veća mikrobna raznolikost od uzorka prije FMT-a, što je otkriveno metodom sekvenciranja 16S rRNA. U drugom istraživanju koje je provedeno na psima s refraktornim proljevom povezanim s *C. perfringens*, FMT je primijenjen putem klizme te je proljev nestao kod svih pasa nakon provedenog tretmana. Rezultati ovih istraživanja, kao i brojni drugi ukazuju kako je FMT vrlo uspješan tretman kod ranih vrsta proljeva, iako je nakon liječenja kod ljudi s ulceroznim kolitisom došlo do pojave vrućice i

povećanja C-reaktivnog bjelančevina. Zbog nedostatka podataka koji ukazuju na njegovu sigurnost i učinkovitost, razni autori ne preporučuju FMT osim u slučaju proljeva koji je povezan s *Clostridiumom* te drugih kroničnih enteropatija koje su otporne na standardne terapije (CHAITMAN i sur., 2016.).

## **10. ZAKLJUČCI**

1. Gastrointestinalni mikrobiom igra vrlo važnu ulogu u zdravlju sisavaca. Sudjeluje u vitalnim fiziološkim procesima organizma te je bitan za sam razvoj domaćina.
2. Razne gastrointestinalne i sistemske bolesti povezane su s abnormalnostima unutar crijevnog mikrobioma.
- 3, Unatoč napretku metoda za analiziranje mikrobioma, brojna pitanja ostaju neodgovorena. Buduća istraživanja trebala bi usmjeriti pažnju na njegovo sazrijevanje, proučavanje interakcije između mikrobioma i domaćina te otkrivanju njegove uloge u patogenezi raznih bolesnih stanja.

## 11. LITERATURA

AMITAY E. L., S. WERNER, M. VITAL, D. H. PIEPER, D. HOFER, I. J. GIERSE, J. BUTT, Y. BALAVARCA, K. CUK, H. BRENNER (2017): Fusobacterium and colorectal cancer: causal factor or passenger? Results from a large colorectal cancer screening study. *Carcinogenesis*, 38 781 - 788.

doi: 10.1093/carcin/bgx053.

ARRIETA M. C., L. T. STIEMSMA, N. AMENYOGBE, E. M. BROWN, B. FINLAY (2014): The intestinal microbiome in early life: Health and disease. *Front. Immunol.* 5, 427. doi: 10.3389/fimmu.2014.00427.

doi: 10.1111/jvim.14875.

BARKO P.C., M.A. MCMICHAEL, K.S. SWANSON, D. A. WILLIAMS (2018): The Gastrointestinal Microbiome. *J. Vet. Intern. Med.* 32, 9 - 25.

doi: 10.1111/jvim.14875.

BARRY K. A., B. J. WOJCICKI, I. S. MIDDELBOSS, B. M. VESTER, K. S. SWANSON, G. C. FATHEY (2010): Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats. *J. Proteome Res.* 11, 5924 – 5933.

doi: 10.2527/jas.2009-2464.

BENYACOUB J., P. F. PEREZ, F. ROCHAT, K. Y. SAUDAN, G. REUTELER, N. ANTILLE, M. HUMEN, G. L. DE ANTONI, C. CAVADINI, S. BLUM, E. J. SCHIFFRIN (2005): *Enterococcus faecium* SF68 enhances the immune response to *Giardia intestinalis* in mice. *J. Nutr.* 135, 1171 - 1176.

doi: 10.1093/jn/135.5.1171.

BERMINGHAM E. N., P. MACLEAN, D. G. THOMAS, N. J. CAVE, W. YOUNG (2017): Key bacterial families (Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae and Bacteroidaceae) are related to the digestion of protein and energy in dogs. *PeerJ.* 5, 3019.

doi: 10.7717/peerj.3019.

BLAKE A. B., J. S. SUCHODOLSKI (2016): Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Anim. Front.* 6, 37 – 42.

[doi.org/10.2527/af.2016-0032](https://doi.org/10.2527/af.2016-0032)

BRESCIANI F., Y. MINAMOTO, J. S. SUCHODOLSKI, G. GALIAZZO, C. G. VECCHIATO, C. PINNA, G. BIAGI, M. PIETRA (2018): Effect of an extruded animal protein-free diet on fecal microbiota of dogs with food-responsive enteropathy. *J. Vet. Intern. Med.* 32, 1903 - 1910.

doi: 10.1111/jvim.15227.

BYEE S. N., A. V., SCORZA, M. R. MALPPIN (2011): Effect of the probiotic enterococcus faecium SF68 on the presences of diarrhea in cats and dogs housed in an animal shelter. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 856 - 860.

doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.0738.x.

CHAITMAN J., A. E. JERGENS, F. GASCHEN, J. F. GARCIA – MAZCORRO, S. L. MARKS, A. G. MARROQUIN – CARDONA, K. RICHTER, G. ROSSI, J. S. SUCHODOLSKI, J. S. WEESE (2016): Commentary on key aspects of fecal microbiota transplantation in small animal practice. *Vet. Med.* 7, 71 - 74.

doi: 10.2147/VMRR.S105238.

DESAI M. S., A. M. SEEKATZ, N. M. KOROPATKIN, N. KAMADA, C. A. HICKEY, M. WOLTER, N. A. PUDLO, S. KITAMOTO, N. TERRAPON, A. MULLER, V. B. YOUNG, B. HENRISSAT, P. WILMES, T. S. STAPPENBECK, G. NUNEZ, E. C. MARTENS (2016): A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell* 167, 1339 - 1353.

doi: 10.1016/j.cell.2016.10.043.

DEUSCH O., C. O'FLYNN, A. COLYER, P. MORRIS, D. ALLAWAY, P. G. JONES, K. S. SWANSON (2014): Deep Illumina-based shotgun sequencing reveals dietary effects on the structure and function of the fecal microbiome of growing kittens. *PLoS One* 10;9(7):e101021.

DOMINIGUEZ-BELLO M. G., E. K. COSTELLO, M. CONTRERAS, M. MAGRIS, G. HIDALGO, N. FIERER, R. KNIGHT (2010): Delivery mode shapes the acquisition and

structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A* 107, 11971 - 11975.

doi: 10.1073/pnas.1002601107.

DOMINIGUEZ- BELLO M. G., K. M. DE JESUS-LABOY, N. SHEN, L. M. COX, A. AMIR, A. GONZALEZ, N. A. BOKULICH, S. J. SONG, M. HOASHI, J. I. RIVIERA – VINAS, K. MENDEZ, R. KNIGHT, J. S. CLEMENTE (2016): Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nat. Med.* 20, 250 - 253.

doi: 10.1038/nm.4039.

EISEMAN B., W. SILEN, G. S. BASCOM, A. J. KAUVAR (1958): Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 44, 854 - 859.

GAGNE J. W., J. J. WAKSHLAG, K. W. SIMPSON, S. E. DOWD, S. LATCHIMAN, D. A. BROWN, K. BROWN, K. S. SWANSON, G. C. FAHEY (2013): Effects of a synbiotic on fecal quality, short-chain fatty acid concentrations, and the microbiome of healthy sled dogs. *BMC Vet. Res.* 9, 246.

doi: 10.1186/1746-6148-9-246.

GALLO A., G. PASSARO, A. GASBARRINI, R. LANDOLFI, M. MONTALTO (2016): Modulation of microbiota as treatment for intestinal inflammatory disorders: An update. *World J. Gastroenterol.* 22, 7186 - 7202.

doi: 10.3748/wjg.v22.i32.7186

GARCIA-MAZCORRO J. F., S. E. DOWD, J. POULSEN, J. M. STEINER, J. S. SUCHODOLSKI (2012): Abundance and short-term temporal variability of fecal microbiota in healthy dogs. *Microbiologyopen* 1, 340 - 347.

doi :10.1002/mbo3.36

GARCIA-MAZCORRO J. F., D. J. LANERIE, S. E. DOWD, C.G. PADDOCK, M. GRUTZNER, J. M. STEINER, R. IVANEK, J. S. SUCHODOLSKI (2011): Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. *FEMS Microbiol. Ecol.* 78, 542 - 547.

[doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01185.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01185.x)

GARCIA-MAZCORRO J. F., J. S. SUCHODOLSKI, K. R. JONES, S. CLARK – PRICE, S. DOWD, Y. MINAMOTO, M. E. MARKEL, J. STEINER, O. DOSSIN (2012): Effect of the proton pump inhibitor omeprazole on the gastrointestinal bacterial microbiota of healthy dogs. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80, 624 - 636.

doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01331.x.

GARRET W. S., C. A. GALLINI, T. YATSUNENKO, M. MICHAUD, A. DUBOIS, M L. DELANEY, S. PUNIT, M. KARLSSON, L. BRY, J. N. GLICKMAN, J. I. GORDON, A. B. ONDERDONK, L. H. GLIMCHER (2010): Enterobacteriaceae act in concert with the gut microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. *Cell Host Microbe* 8, 292 - 300.

doi: 10.1016/j.chom.2010.08.004

GIARETTA P. R., J. S. SUCHODOLSKI, A. E. JERGENS, J. STEINER, J. LIDBURY, A. COOK, M. HANIFER, T. SPILLMANN, S. KILPINEN, P. SYRJA, P. RECH (2020): Bacterial biogeography of the colon in dogs with chronic inflammatory enteropathy. *Veterinary Pathology* 57, 258 - 265.

[doi.org/10.1177/0300985819891259](https://doi.org/10.1177/0300985819891259)

GIBSON P. R., O. ROSELLA, A. J. WILSON, J. M. MARIADASON, K. RICKARD, K. BYRON, D. H. BARKLA (1999) Colonic epithelial cell activation and the paradoxical effects of butyrate. *Carcinogenesis* 20, 539 - 544.

doi: 10.1093/carcin/20.4.539.

GUARD B. C., J. W. BARR, L. REDDIVARI, C. KLEMASHEVICH, A. JAYARMAN, J. M. STEINER, J. VANAMALA, J. S. SUCHODOLSKI (2015): Characterization of microbial dysbiosis and metabolomic changes in dogs with acute diarrhea. *PLoS ONE* 22;10(5):e0127259.

doi: 10.1371/journal.pone.0127259.

GUARD B. C., J. B. HONNEFFER, A. E. JERGENS, M. M. JONIKA, L. TORESSON, Y. A. LAWRENCE, C. WEBB, S. HILL, J. LIBDURY, J. STEINER, J. SUCHODOLSKI (2019):

Longitudinal assessment of microbial dysbiosis, fecal unconjugated bile acid concentrations, and disease activity in dogs with steroid-responsive chronic inflammatory enteropathy. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 1295 - 1305.

[doi.org/10.1111/jvim.15493](https://doi.org/10.1111/jvim.15493)

HAND D., C. WALLIS, A. COLYER, C. W. PENN (2013): Pyrosequencing the canine faecal microbiota: Breadth and depth of biodiversity. *PLoS ONE* 8(1):e5311.

doi: 10.1371/journal.pone.0053115.

IGARASHI H., S. MAEDA, K. OHNO, A. HORIGOME, T. ODAMAKI, H. TSUJIMOTO (2014): Effect of oral administration of metronidazole or prednisolone on fecal microbiota in dogs. *PLoS ONE* 17;9(9):e107909.

doi: 10.1371/journal.pone.0107909.

KILPINEN S., M. RANTALA, T. SPILLMANN, J. BJORKROTH, E. WESTERMARCK (2015): Oral tylosin administration is associated with an increase of faecal enterococci and lactic acid bacteria in dogs with tylosin-responsive diarrhoea. *J. Vet. Intern. Med.* 205, 369 - 374.

doi: 10.1016/j.tvjl.2015.04.031.

KOREN O., J. K. GOODRICH, T. C. CULLENDER, A. SPOR, K. LAITINEN, H. K. BACKHED, A. GONZALEZ, J. J. WERNER, L. T. ANGENENT, R. KNIGHT, F. BACKHED, E. ISOLAURI, S. SALMINEN, R. E. LEY (2012): Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 150, 470 - 480.

doi: 10.1016/j.cell.2012.07.008.

KOSECKA-STROJEK M., A. J. SABAT, V. AKKERBOOM, A. M. D. M. KOOISTRA – SMID, J. MIEDZOBRODZKI, A. W. FRIEDRICH (2019): Development of a reference data set for assigning *Streptococcus* and *Enterococcus* species based on next generation sequencing of the 16S–23S rRNA region. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 8, 178.

doi: 10.1186/s13756-019-0622-3.

KURINA I., A. POPENKO, N. KALIMENKO, S. KOCHECHKIN, L. CHUPRIKOVA, M. FILIPENKO, A. TYAKHT, D. ALEXEEV (2020): Development of qPCR platform with probes for quantifying prevalent and biomedically relevant human gut microbial taxa. *Mol. Cell. Probes* 52:101570.

[doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101570](https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101570)

LAU J. T., F. J. WHELAN, I. HERATH, C. H. LEE, S. M. COLLINS, P. BERCIK, M. G. SURETTE (2016): Capturing the diversity of the human gut microbiota through culture-enriched molecular profiling. *Genome Med.* 8, 72.

doi: 10.1186/s13073-016-0327-7.

LEY R.E. (2010): Obesity and the human microbiome. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 26, 5 – 11.

doi: 10.1097/MOG.0b013e328333d751.

LOZUPONE C. A., J. I. STROMBAUGH, J. I. GORDON, J. K. JANSSON, R. KNIGHT (2012): Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 489, 220 - 230.

doi: 10.1038/nature11550.

MA D., A. C. WANG, I. PARIKH, S. J. GREEN, J. D. HOFFMAN, G. CHLIPALA, M. P. MURPHY, B. S. SOKOLA, B. BAUER, A. M. S. HARTZ, A. LIN (2018): Ketogenic diet enhances neurovascular function with altered gut microbiome in young healthy mice. *Sci. Rep.* 27;8(1):6670.

doi: 10.1038/s41598-018-25190-5.

MENOZZI A., M. DALL' AGLIO, F. QUINTAALLA, L. DALLAVALLE, V. MEUCCI, S. BERTINI (2016): Rifaximin is an effective alternative to metronidazole for the treatment of chronic enteropathy in dog: A randomised trial. *BMC Vet. Res.* 12, 217.

doi: 10.1186/s12917-016-0851-0

MIDDELBOS I. S., B. M. VESTER BOLER, A. QU, B. A. WHITE, K. S. SWANSON, G. C. FAHEY (2010): Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. *PLoS One* 5(3):e9768.

doi: 10.1371/journal.pone.0009768

MIDDELBOS I.S. (2008): Implications of Dietary Fiber and Fermentable Carbohydrates on Gut Health and Intestinal Microbial Ecology of the Dog. Disertacija. Urbana-Champaign, Illinois: University of Illinois at Urbana-Champaign.

MINAMOTO Y., T. MINAMOTO, A. ISIAH, P. SATTASATHCHANA, A. BUONO, V. R. RANGACHARI, I. H. MCNEELY, J. LIDBURY, J. M. STEINER, J. S. SUCHODOLSKI (2019): Fecal short-chain fatty acid concentrations and dysbiosis in dogs with chronic enteropathy. *J. Vet. Intern. Med.* 33, 1608 - 1618.

doi: 10.1111/jvim.15520.

MINAMOTO Y., C. C. OTONI, S. M. STEELMAN, O. BUYUKLEBLEBICI, J. M. STEINER, A. E. JERGENS, J. S. SUCHODOLSKI (2015): Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* 6, 33 – 47.

doi: 10.1080/19490976.2014.997612.

MUEGGE B. D., J. KUCZYNSKI, D. KNIGHTS, J. C. CLEMENTE, A. GONZALEZ, L. FONTANA, B. HENRISSAT, R. KNIGHT, J. I. GORDON (2011): Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. *Science* 332, 970 - 974.

doi: 10.1126/science.1198719.

OLSZAK T., D. AN, S. ZEISSIG, M. P. VERA, J. RICHER, A. FRANKE, J. N. GLICKMAN, E. SIEBERT, R. M. BARON, D. L. KASPER, R. S. BLUMBERG (2012): Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science* 336, 489 - 493.

doi: 10.1126/science.1219328.

PABST O., H. HERBRAND, M. FRIEDRICHSEN, S. VELAGA, M. DORCSH, G. BERHARDT, T. WORBS, A. J. MACPHERSON, R. FORSTER (2006): Adaptation of solitary intestinal lymphoid tissue in response to microbiota and chemokine receptor CCR7 signaling. *J. Immunol.* 177, 6824 - 6832.

doi: 10.4049/jimmunol.177.10.6824.

PALMER C., E. M. BIK, D. B. DIGIULIO, D. A. RELMAN, P. O BROWN (2007): Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 5:e177.

doi: 10.1371/journal.pbio.0050177.

PATRA A. K. (2011): Responses of feeding prebiotics on nutrient digestibility, faecal microbiota composition and short-chain fatty acid concentrations in dogs: A meta-analysis. *Animal* 5, 1743 - 1750.

doi: 10.1017/S1751731111000887.

PELASEYED T., J. H. BERGSTROM, J. K. GUSTAFSSON, A. ERMUND, G. M. H. BIRCHENOUGH, A. SCHUTTE, S. VAN DER POST, F. SVENSSON, A. M. RODRIGUEZ – PINEIRO, E. E. L. NYSTROM, S. WISING, M. E. V. JOHANSSON, G. C. HANSSON (2014): The € mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunol. Rev.* 260, 8 – 20.

doi: 10.1111/imr.12182.

PILLA R., F. P. GASCHEN, J. W. BARR, E. OLSON, J. HONNEFFER, B. C. GUARD, A.B. BLAKE, D. VILLANUEVA, M. R. KHATTAB, M. K. ALSHAWAQFEH, J. A. LIDBURY, J. M. STEINER, J. S. SUCHODOLSKI (2020): Effects of metronidazole on the fecal microbiome and metabolome in healthy dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 34, 1853 - 1866.

doi: 10.1111/jvim.15871.

PILLA R., J. S. SUCHODOLSKI (2020.): The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 50, 605 - 621.

doi: 10.1016/j.cvsm.2021.01.002.

RITCHIE L. E., J. M. STEINER, J. S. SUCHODOLSKI (2008): Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66, 590 - 598.

doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00609.x

SAUTER S. N., J. BENYACOUB, K. ALLENPACH, F. GASCHEN, E. ONTSOUKA, G. REUTELER, C. CAVADINI, R. KNORR, J. W. BLUM (2006): Effects of probiotic bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with an elimination diet. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 90, 269 - 277.

doi: 10.1111/j.1439-0396.2005.00595.x.

SCHAUF S., G. DE LA FUENTE., C. J. NEWBOLD, A. SALAS – MANI, C. TORRE, L. ABECIA, C. CASTRILLO (2018): Effect of dietary fat to starch content on fecal microbiota composition and activity in dogs. *J. Anim. Sci.* 96, 3684 - 3698.

doi: 10.1093/jas/sky264.

SCHMIDT M., S. UNTERER, J. S. SUCHODOLSKI, J. B. HONNEFFER, B. C. GUARD, J. AA. LIDBURY, J. M. STEINER, P. KOLLE (2018): The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. *PLoS One* 13(8):e0201279.

doi: 10.1371/journal.pone.0201279.

SMITH P. M., M. R. HOWITT, N. PANIKOV, M. MICHAUD, C. A. GALLINI, M. BOHLOOLY – Y, J. N. GLICKMAN, W. S. GARRETT (2013): The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* 341, 569 - 573.

doi: 10.1126/science.1241165.

SOMMER F., F. BACKHED (2013): The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 227 – 238.

doi: 10.1038/nrmicro2974.

STEPANKOVA R., F. KOVARU, J. KRUNAL (1980): Lymphatic tissue of the intestinal tract of germfree and conventional rabbits. *Folia Microbiol.* 25, 491 - 495.

doi: 10.1007/BF02897215.

SUCHODOLSKI J. S. (2021): Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Vet. Chlin. Pathol.* 50, 6 - 17.

doi: 10.1111/vcp.13031.

SUCHODOLSKI J. S., J. CAMACHO, J. M. STEINER (2008): Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66, 567 - 578.

doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00521.x

SWANSON K. S., S. E. DOWD, J. S. SUCHODOLSKI, I. S. MIDDELBOS, B. M. VESTER, K. A. BARRY, K. E. NELSON, M. TORRALBA, B. HENRISSAT, P. M. COUTINHO, I. K. O. CANN, B. A. WHITE, G. C. FAHEY (2011): Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME J.* 5, 639 - 649.

doi: 10.1038/ismej.2010.162.

TUN H. M., M. S. BRAR, N. KHIN, L. JUN, R. KIN – HI HUI, S. E. DOWD, F. CHI – CHING LEUNG (2012): Gene-centric metagenomics analysis of feline intestinal microbiome using 454 junior pyrosequencing. *J. Microbiol. Methods* 88, 369 – 376.

doi: 10.1016/j.mimet.2012.01.001.

TURNBAUGH P. J., R. E. LEY, M. A. MAHOWALD, V. MAGRINI, E. R. MARDIS, J. I. GORDON (2006): An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444, 1027 – 1031.

doi: 10.1038/nature05414.

UNDERWOOD M. A. (2014): Novel mechanisms by which gut microbes trigger and prevent disease. *Prev. Med.* 65, 133 - 137.

doi: 10.1016/j.ypmed.2014.05.010.

VASQUEZ-BAEZA Y., E. R. HYDE, J. S. SUCHODOLSKI, R. KNIGHT (2016): Dog and human inflammatory bowel disease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks. *Nat. Microbiol.* 1:16177.

doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.177.

WARDEN C. C. (1909): The toxemic factor in rheumatoid arthritis. *Cal. State. J. Med.* 7, 299 - 301.

WHITE R., T. ATHERLY, B. GUARD, G. ROSSI, C. WANG, C. MOSHER, C. WEBB, S. HILL, M. ACKERMANN, P. SCIABARRA, K. ALLENSPACH, J. SUCHODOLSKI, A. E. JERGENS (2017): Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* 8, 451 - 466.

doi: 10.1080/19490976.2017.1334754.

WRZOSEK L., S. MIQUELE, M. L. NOORDINE, S. BOUET, M. J. CHEVALIER – CURT, V. ROBERT, C. PHILIPPE, C. BRIDOMMEAU, C. CHERBUY, C. ROBBE – MASSELOT, P. LANGELLA, M. THOMAS (2013): *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biol.* 11, 61.

doi: 10.1186/1741-7007-11-61.

YATSUNENKO T., F. E. REY, M. J. MANARY, I. TREHAN, M. G. DOMINIGUEZ – BELLO, M. CONTRERAS, M. MAGRIS, G. HIDALGO, R. N. BALDASSANO, A. P. ANOKHIN, A. C. HEATH, B. WARNER, J. REEDER, J. KUCZYNSKI, J. G. CAPORASO, C. A. LOZUPONE, C. LAUBER, J. C. CLEMENTE, D. KNIGHTS, R. KNIGHT, J. I. GORDON (2012): Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 486, 222 - 227.

doi: 10.1038/nature11053.

ZENTEK J., B. MARQUART, T. PIETRZAK, O. BALLEVRE, F. ROCHAT (2003): Dietary effects on bifidobacteria and *Clostridium perfringens* in the canine intestinal tract. *J. Anim. Physiol. Anim. Nur.* 87, 397 - 407.

doi.org/10.1046/j.0931-2439.2003.00451.x

## 12. SAŽETAK

### Utjecaj hrane na mikrobiom probavnog sustava pasa

Ivana Raguz

Gastrointestinalni mikrobiom ima važnu ulogu u metabolizmu i vitalnim fiziološkim procesima unutar domaćina, štiti organizam od patogena te svojim sastavom utječe na imunološki sustav i cjelokupno zdravlje domaćina. Većina bakterija unutar mikrobioma može se svrstati u 5 skupina: *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, i *Actinobacteria*. Razni čimbenici, kao što su dob, okoliš, prehrana, mikrobiom majke i razni drugi mogu utjecati na sastav mikrobiomne zajednice. Promjene u sastavu i raznolikosti crijevnog mikrobioma povezane su s raznim gastrointestinalnim i sistemskim bolestima. Također, razne vrste dijeta mogu dovesti do promjena u sastavu mikrobioma, a posljedično time i do promjena u proizvodnji metabolita. Mikrobiom crijeva u zdravih psa i mačaka je otporan, prilagodljiv i sposoban vratiti se na svoj osnovni sastav nakon što se životinja vrati na svoju uobičajenu prehranu, što nam pokazuje da trajna promjena u sastavu mikrobioma zahtjeva dugotrajnu primjenu specifične prehrane. Terapeutske metode za liječenje disbioze uključuju prebiotike, probiotike, antibiotike te transplantaciju fekalnog mikrobioma. Probiotici prilikom prolaska kroz GI trakt proizvode metabolite koji mogu ublažiti kliničke znakove i modificirati sastav mikrobne zajednice. FMT je vrlo zanimljiva metode terapijskog liječenja koji bi u budućnosti mogao biti odličan alat za pomoć pri oporavku disbioze, međutim, potrebne su daljnje studije kako bi se promijenio njegov potencijal i ograničenja. Buduća istraživanja na području crijevnog mikrobioma trebala bi biti usmjerena na razjašnjavanje mehanizama interakcije mikrobioma i domaćina, utjecaju mikrobioma na patogenezu raznih bolesti te procjenjivanju učinkovitosti i održivosti raznih terapijskih metoda liječenja koje se primjenjuju kod crijevne disbioze.

Ključne riječi: gastrointestinalni mikrobiom, terapeutske metode, bakterije, probiotici

## 13. SUMMARY

The influence of food on the microbiome of the digestive system of dogs

Ivana Raguž

The gastrointestinal microbiome plays an important role in metabolism and vital physiological processes within the host, protects the organism from pathogens, affects the immune system and overall health of the host. Most bacteria within the microbiome can be classified into 5 groups: Firmicutes, Fusobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria, and Actinobacteria. Various factors, such as age, environment, diet, maternal microbiome and various others can influence the composition of the microbiome community. Changes in the composition and diversity of the intestinal microbiome are associated with various gastrointestinal and systemic diseases. Also, various diets can lead to changes in the microbiome's composition and consequently to changes in metabolite production. The intestinal microbiome in healthy dogs and cats is resistant, adaptable and able to return to its basic composition after the animal returns to its usual diet. That shows us that a permanent change in the composition of the microbiome requires a long-term application of a specific diet. Therapeutic methods for treating dysbiosis include prebiotics, probiotics, antibiotics, and fecal microbiome transplantation. When probiotics pass through the GI tract, they produce metabolites that can alleviate clinical signs and modify the composition of the microbial community. FMT is a very interesting method of therapeutic treatment that could be a great tool to help with dysbiosis recovery in the future. However, further studies are needed to change its potential and limitations. Future research in the field of the intestinal microbiome should be aimed at elucidating the mechanisms of interaction between the microbiome and the host, the influence of the microbiome on the pathogenesis of various diseases and evaluating the effectiveness and sustainability of various therapeutic treatment methods used in intestinal dysbiosis.

Key words: gastrointestinal microbiome, therapeutic methods, bacteria, probiotics

## 14. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 13. 08. 1998. godine u Đakovu gdje sam pohađala sam Osnovnu školu Josipa Antuna Čolnića. Nakon završetka osnovne škole, 2013., upisujem Opću gimnaziju A. G. Matoša koju završavam 2017. godine. Na jesen te iste godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija radila sam razne studentske poslove gdje sam stekla nova poznanstva i prijateljstva. Na šestoj godini fakulteta odrađujem stručnu praksu u specijalističkoj veterinarskoj ambulanti – ‘HOLYPET’ gdje sam usvojila mnoge vještine. Nakon završenog semestra, na ljeto 2023. godine odlazim u Ameriku na Work and Travel program, točnije u Ocean City NJ, gdje provodim cijelu sezonu. Nakon toga sam putovala Amerikom i upoznavala se s njihovom kulturom i običajima. Svoje slobodno vrijeme provodim u prirodi, trčeći te čitajući razne knjige iz područja alternativne medicine u čijem smjeru bih željela nastaviti daljnju edukaciju.