

UDK 612.33:579.8]:612.11/.17
COBISS.SR-ID 38711049

GASTROENTEROKARDIOLOGIJA - ILI ŠTA IMAJU ZAJEDNIČKO CREVO I SRCE?

Zoran Joksimović (1), Dušan Bastać (2), Snežana Pavlović (3)

(1) INTERNISTIČKA ORDINACIJA „JOKSIMOVIĆ“ BOR; (2) INTERNISTIČKA ORDINACIJA „DR BASTAĆ“ ZAJEČAR; (3) SPECIJALISTIČKA ORDINACIJA ZA INTERNU MEDICINU „DR PAVLOVIĆ KARDIOLOGIJA“ BEOGRAD

Sažetak: Crevna mikrobiota našeg organizma je zajednica bakterija, arheja, gljivica, virusa i parazita koji čine jedinstveni ekosistem u digestivnom traktu koji se sastoji od oko 10^{14} mikroorganizama. Raznolikost ove zajednice kod pojedinih osoba nastaje zbog razlika u genomu domaćina i uticaja faktora životne sredine, uključujući higijenu, ishranu, način života i upotrebu različitih lekova. Značajan broj dokaza sugeriše da bi promene u mikrobioti mogle da igraju ulogu u kardiovaskularnim bolestima. Rezultati istraživačkih radova tokom poslednje dve decenije potvrdili su da izmenjeni sastav mikrobiote (disbioza) doprinosi razvoju različitih bolesti, uključujući kardiovaskularne bolesti, dijabetes tipa 2, hronične bolesti bubrega, nealkoholnu masnu jetru, hronične upalne bolesti creva i čak određene vrste karcinoma. Sve je više dokaza da ubuduće, pored dosadašnjih faktora predispozicije za kardiovaskularne i metaboličke bolesti, uključujući genetske faktore, faktore životne sredine i životnog stila, treba računati i na nove faktore rizika poput nutritivne disproporcije i disbioze creva. Tako „novim očima“ gledamo na vezu između gastrointestinalnog trakta i kardiovaskularnog sistema odnosno na „osovinu crevo-srce“.

Ključne reči: crevna mikrobiota, nutritivna disproporcija, disbioza, kardiovaskularne bolesti, metabolički poremećaji

Uvod

Proučavanje crevne mikrobiote čoveka i njegove uloge u raznim bolestima značajno je napredovalo u poslednjoj deceniji. Mikrobiotu čoveka čine svi mikroorganizmi koji žive u simbiozi s ljudskim telom, a mikrobiom predstavlja skup svih gena mikrobiote.

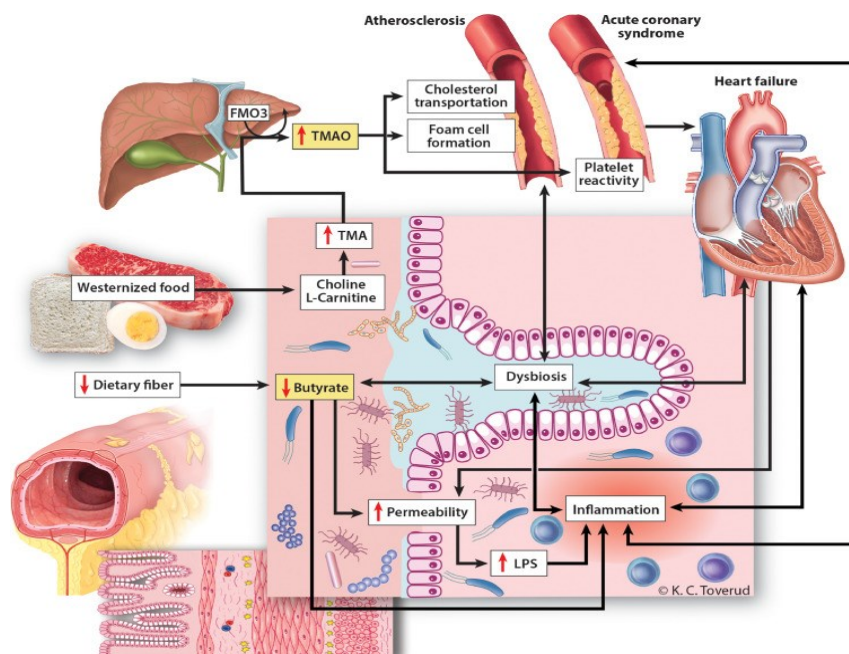
Humani mikrobiom sadrži i do stotinu puta veći broj gena negoli ljudski genom. Mikroorganizme možemo naći u raznim delovima ljudskog tela, ali najbrojnija je mikrobiota organa za varenje. Mikrobiota je varijabilna među zdravim ljudima i jedinstvena za pojedinca - ne postoje dva ista mikrobioma kod ljudi, kao što ne postoje ni isti otisci prstiju. Iako ne postoje dva čoveka sa istim sastavom mikrobiote, ipak, postoje veće sličnosti u sastavu mikrobiote među pripadnicima istih rasa, etničkih grupa i osoba u krvnom srodstvu. Crevna mikrobiota je skup od približno 10^{14} mikroorganizama. Broj bakterija u svakom čoveku je veći od broja ljudi koji su ikada živeli na zemlji. To je zajednica desetostruko brojnija od svih ćelija našeg organizma. Sastoji se od bakterija (oko 1000 različitih vrsta), arheja, gljivica, virusa i parazita koji čine jedinstveni ekosistem. Mikrobiota ima veoma važnu ulogu za čovekovo zdravlje. Od ključne je važnosti za održavanje homeostatskih funkcija gastrointestinalnog trakta, jer učestvuje u procesima varenja domaćina, metabolizmu i regulaciji crevnog imunog sistema [1,2]. Po rođenju, digestivni trakt novorođenčeta nije naseljen mikroorganizmima. U prvim satima života ga kolonizuju majčini mikroorganizmi, u početku koliformne bakterije i streptokoke, kasnije laktobacili i enterokoke, a broj mikroorganizama u crevnom traktu počinje da se povećava, postepeno formirajući dinamičku ravnotežu crevne mikrobiote. Naravno, porast ovih bakterija zavisi i od načina porođaja - prirodni ili carskim rezom [3]. U odrasloj dobi, većina crevne mikrobiote sastoji se od pet grupa mikroba, a to su: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* i *Cerrucomicrobia*. Približno je proporcionalni broj Gram-pozitivnih *Firmicutes* i Gram-negativnih *Bacteroidetes* koje čine većinu vrsta u zdravom odraslom crevu > 90% [4-5]. Odnos *Firmicutes* i *Bacteroidetes* ostaje relativno konstantana kod zdrave jedinke, iako nije jednak kod svih pojedinaca. Razlike nastaju zbog razlika u genomima domaćina, faktorima okoline kao što su higijena, prehrana, način života i upotreba antibiotika [4]. Zbog kiselog okruženja i intenzivne peristaltike, u želucu i dvanaestopalačnom crevu je prisutno manje mikroorganizama (10-1000 / ml), od kojih su većina gram-pozitivne bakterije. Enterokoke i Laktobacili su prisutni u dvanaestopalačnom crevu,

a broj bakterija u ovom području je obično 10^4 / ml. Brojem i raznolikošću vrsta najbogatije je debelo crevo (10^{12} / ml), koje je pretežno naseljeno gram-negativnim i anaerobnim bakterijama [5].

Šta je tačno zdrava mikrobiota nije do kraja razjašnjeno, ali je pokazano da u slučaju narušene ravnoteže - disbioze, može doći do razvoja bolesti. Kada prehrambene navike, faktori okoline, crevna infekcija, neki lekovi ili drugi faktori dovedu do promena u vrsti i količini crevnih mikroorganizama, dolazi do disbioze creva, koja uzrokuje zapaljenjske i metaboličke poremećaje. Homeostaza crevne mikrobiote presudna je za održavanje ljudskog zdravlja, dok disbioza doprinosi razvoju raznih bolesti, uključujući kardiovaskularne, hronične bolesti bubrega, dijabetes tipa 2, nealkoholnu masnu jetru, pa i neke vrste raka [1,6,7]. Disbioza creva može objasniti zašto su neki pojedinci skloniji razvoju određenih bolesti. Promene u sastavu mikrobiote nedavno su identifikovane kao važan faktor narušavanja funkcionisanja „osovine crevo-srce“ što doprinosi razvoju ateroskleroze i hipertenzije - dva glavna faktora rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti [1,7,8].

slika 1. Uticaj Disbioze creva na kardiovaskularne bolesti

(preuzeta sa sajta [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(20\)30024-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(20)30024-4/fulltext) u naučne svrhe a ne koristi se u komercijalne svrhe)



Mikrobiota creva se može smatrati endokrinim organom, a svaki mikrob ima sposobnost da proizvede stotine različitih poznatih i nepoznatih metabolita koji deluju dalje od samog creva. Kako većinu bakterija koje nastanjuju organe za varenje za sada nije moguće kolonizovati u laboratoriji, za utvrđivanje sastava mikrobiote koriste se metoda sekvenciranja nove generacije i bioinformatičke analize ekstrahovane mikrobne dezoksiribonukleinske kiseline (DNK). Poslednjih godina proučavan je uticaj sastava mikrobiote na različite hronične i autoimune bolesti, posebno u ispitivanjima na životinjama [3,8]. Ova istraživanja pokazuju značaj mikrobiote u odnosu na zdravlje i imunitet i nude nove, još neotkrivene mogućnosti za upotrebu ovog znanja u lečenju nekih drugih bolesti, poput metaboličkog sindroma, insulinske rezistencije, hroničnih inflamatornih bolesti creva, karcinoma [1,6,9].

Disbioza creva i ateroskleroza

Ateroskleroza je glavni faktor rizika za kardiovaskularne bolesti. Ovaj proces karakteriše akumulacija holesterola i makrofaga (inflamatornih ćelija) u vaskularnim zidovima, što doprinosi stvaranju aterosklerotskih plakova. Nedavne studije pokazale su da crevna disbioza može da doprinese

razvoju ateroskleroze modulirajući zapaljenske procese i formirajući određene mikrobne metabolite [10-15].

Integritet crevne sluznice je prva barijera koja štiti domaćina od upada patogena, prolaska crevnog sadržaja i bakterijskih komponenata u krvne sudove. Smanjena koncentracija proteina koji osiguravaju bliske ćelijske kontakte i njihovu nepropusnost, uključujući zonula occludens-1 (ZO-1) poznat i kao Tight junction protein-1 (TJP1), kladudin 1 i okcludin, omogućava povećanu propustljivost crevnog zida remeteći ravnotežu između odumiranja i regeneracije mukoznih ćelija [1,13,14]. Ako je sluzna barijera oštećena, prodor mikroba i njihovih produkata u krvne sudove pokreće imuni odgovor, tkivno i sistemsko zapaljenje. Oštećenje integriteta crevne barijere izazvano crevnom disbiozom, dakle, deluje kao faktor rizika koji pokreće hronično zapaljenje koje leži u osnovi različitih bolesti uključujući i aterosklerozu. Glavni molekuli-produkti bakterija koji su i pokretači imunog i zapaljenjskog odgovora su „patogeni povezani sa molekularnim obrascima“ (engl. Pathogen-associated molecular pattern- PAMP). PAMP-ovi aktiviraju urođeni imunološki odgovor, štiteći domaćina od infekcije. Širok spektar različitih vrsta molekula može da služi kao PAMP, uključujući glikane i glikokonjugate. Bakterijski lipopolisaharidi (LPS), endotoksini koji se nalaze na ćelijskim membranama gram negativnih bakterija, smatraju se prototipskom klasom PAMP-a. Povezanost nivoa LPS u plazmi i kardiovaskularnog rizika prvi put su proučavali 1999. godine Niebauer i saradnici [15]. Rezultati studije potvrdili su da je nivo endotoksemije bio najveći kod pacijenata sa najtežom kardiovaskularnom bolešću. Cani i saradnici potvrdili su u svojoj studijida je crevna disbioza sprečila stvaranje „proteina bliskog kontakta“, što je rezultiralo povećanjem propustljivosti sluzokože creva, a samim tim i prolazom LPS u krv [16]. LPS, koji se proizvode u povećanim količinama u crevnoj disbiozi, mogu igrati važnu ulogu u modulaciji „receptora sličnih putarini“ (Toll-like receptors-TLR) koji prepoznaju bakterijske proizvode i regulišu imunološki sistem domaćina. TLR su klasa proteina koji igraju ključnu ulogu u urođenom imunološkom sistemu. Oni su jednokratno prolazni membranski receptori koji se obično nalaze na sentinel ćelijama (ćelije prve linije odbrane) poput makrofaga i dendritičnih ćelija koje prepoznaju strukturno očuvane molekule izvedene iz mikroba. Jednom kada mikrobi probiju fizičke barijere poput kože ili sluznice crevnog trakta, prepoznaju ih TLR-ovi, koji aktiviraju reakcije imunih ćelija. Kliničke studije su pokazale da je porast TLR povezan sa antiinflamatornom aktivnošću i promoviše razvoj ateroskleroze kod ljudi. Rezultati ovih istraživanja poslednjih godina time potvrđuju ulogu i značaj crevne mikrobiote i disbioze u riziku od ateroskleroze [8,9,10,17].

U metabolizmu crevnih bakterija nastaju različiti metaboliti koji učestvuju u razvoju ateroskleroze. Među najvažnijim su različiti amini, metilamini, poliamini, masne kiseline kratkog lanca, trimetilamin i sekundarne žučne kiseline. Konkretno, masne kiseline sa kratkim lancem (SCFA - Short-chain fatty acid) su grupa crevnih mikrobnih metabolita koji su važni za metaboličke bolesti. Studije su pokazale da je crevna mikrobiota uključena u stvaranje trimetilamin N-oksida (TMAO) [8,14]. Trimetilamin (TMA) je nusprodukt bakterijskog metabolizma koji se apsorbuje u krvotok i pretvara u TMAO u jetri pomoću specifičnih jetrenih enzima, monoooksigenaza koje sadrže flavin. Različiti bakterijski sastavi prirodno imaju različite sposobnosti da formiraju TMAO. Studije na miševima su potvrdile da TMAO ubrzava razvoj ateroskleroze stimulisanjem priliva holesterola, inhibicijom izlučivanja holesterola, inhibicijom metabolizma sekundarnih žučnih kiselina i/ ili prekomernom aktivacijom trombocita [3,8,10]. Prema istraživačima, pored uloge biološkog markera za aterosklerozu i kardiovaskularne bolesti, TMAO bi mogao da predstavlja i mogući terapijski cilj u budućnosti. Zanimljivo je da su razvijeni inhibitori proizvodnje TMAO koji ciljaju različite mikrobne TMA liaze. Ovi lekovi smanjuju nivo TMAO i preokreću aterosklerozu na životinjskim modelima. TMA liaza je postala trenutni potencijalni terapijski cilj TMAO modulacije [18].

Mikrobiota creva i hipertenzija

Osim dislipidemije i ateroskleroze, hipertenzija je još jedan od najvažnijih faktora rizika za KVB koji je genetski osetljiv i pod uticajem faktora okoline [19]. Još 1982. godine pokazano je da lečenje antibioticima može prouzrokovati viši krvni pritisak [15]. Sa druge strane, jedan niz studija pokazao je povoljan efekat korišćenja antibiotika na krvni pritisak. Ovi podaci, kao i uočena veza između disbioze i cerebrovaskularnih događaja je indirektno upućivalo na vezu između mikrobiote creva i hipertenzije koja je procenjivana u novijim studijama [20,21]. Dalje, kod spontano hipertenzivnih pacova dokumentovano je da dolazi do značajnog smanjenja broja i raznolikosti mikroba u crevima i smanjenja broja cecalnih

„dobrih bakterija“ iz vrste *Bacteroidetes*, što je praćeno proporcionalnim povećanjem broja „loših bakterija“ iz vrste *Firmicutes*. Studije su, takođe, pokazale da transplantacija cecalnog mikrobiološkog sadržaja od hipertenzivnih životinja davaoca može reprodukovati hipertenziju kod prethodno normotenzivnih životinja [22]. U studiji na miševima pokazano je da disbioza crevne mikrobiote može da izazove angiotenzin-II-indukovanu vaskularnu disfunkciju i hipertenziju. Kao što je u drugom istraživanju utvrđeno da odsustvo crevne mikrobiote štiti miševu od arterijske hipertenzije indukovane angiotenzinom II, vaskularne disfunkcije i oštećenja krajnjih organa izazvanih hipertenzijom [23,24].

Dakle, očigledno je da je mikrobiota creva uključena u razvoj ili pogoršanje hipertenzije. Iako tačni osnovni mehanizmi i međusobna veza između mikrobiote creva i hipertenzije nisu utvrđeni, postojeći dokazi iz istraživanja na životinjama i kliničkih studija ističu ulogu masnih kiselina kratkog lanca -SCFA i oksidisanog lipoproteina male gustine (ox-LDL) u nastanku hipertenzije. Masne kiseline kratkog lanca poput acetata, proprionata i butirata, nastaju uglavnom iz polisaharida rastvorljivih dijetalnih vlakana [23]. Grupe mikroba u crevima koje metabolizuju polisaharide u različite vrste SCFA su specifične. Glavne bakterije koje proizvode acetat su *Streptococcus*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* i *A. Muciniphila* [25]. Propionate generišu *Bacteroides*, *Salmonella*, *Dialister*, *Veillonella*, *Roseburia*, *Coprococcus*, *Blautia*, i dr. [26]. Butirate stvaraju *Lachnospiraceae*, *Ruminococcac*, i *Acid amino coccaceae* [27]. Suplementacija vlakana i acetata dovodi do povećanja broja *Bacteroides acidifaciens* i bila je povezana sa poboljšanjem crevne disbioze, hipertenzije i srčane insuficijencije kod hipertenzivnih miševa [28]. Preveliki broj bakterija koje proizvode butirat povezan je sa povišenim sistolnim i dijastolnim krvnim pritiskom kod trudnica [29].

G protein vezani receptori (GPCR) su receptori na ćelijskoj površini koji otkrivaju molekule SCFA izvan ćelije i aktiviraju ćelijske odgovore. Tri GPCR-a koja su regulisani SCFA-om su: GPR41, GPR43 i GPR109A [30]. SCFA stimulišu puteve regulisane GPCR-om da utiču na sistem renin-angiotenzin da modulira krvni pritisak.

Olfaktorni receptor 78 (Olf78) je još jedan tip GPCR-a eksprimiran u bubregu koji detektuje SCFA [31]. I Olf78 i GPR41 su izraženi u ćelijama glatkih mišića krvnih sudova malog prečnika. U drugoj studiji, stimulacija GPR41 rezultirala je smanjenjem hipotenzivnog odgovora [32]. SCFA, propionat indukuje vazodilataciju i proizvodi akutni hipotenzivni odgovor kod miševa modulacijom aktivnosti Olf78 i GPR41 [33]. Svi ovi nalazi otkrivaju da mikrobiota creva igra važnu ulogu u modulaciji krvnog pritiska preko SCFA i upućuje da je hipertenzija povezana sa disbiozom.

Pored izmenjene regulacije različitih receptora preko SCFA, crevna disbioza, takođe, doprinosi hipertenziji vazokonstrikcijom posredovanom oksidacijom LDL [34]. Mikrobna disbioza promovise ekspresiju pro-inflamatornih citokina i indukuje oksidativni stres koji stimuliše oksidaciju LDL [35]. Viši nivoi oksidisanog LDL (Ox-LDL) smanjuju proizvodnju NO, smanjuju stepen vazodilatacije i stimulišu stvaranje vazokonstriktornih supstanci među kojima je i endotelin-1 koji igra presudnu ulogu u održavanju vaskularnog tonusa i kardiovaskularne homeostaze. Narušena ravnoteža dovodi do hipertenzije [35]. Ipak, uzročni odnos između disbioze creva i hipertenzije je složen i nije u potpunosti procenjen. Tačna uloga crevne mikrobiote u posredovanju hipertenzije, uključeni putevi i mehanizmi zahtevaju dalja detaljna istraživanja.

Crevna mikrobiota i srčana insuficijencija

Sve je više dokaza o povezanosti mikrobiote creva i patogeneze srčane insuficijencije. U engleskoj literaturi se za definisanje ove veze koristi izraz „crevna hipoteza srčane insuficijencije“ - “gut hypothesis of heart failure” [36-39]. Ova hipoteza objašnjava da smanjeni minutni volumen srca (MVS) i povećana sistemski zastoj mogu prouzrokovati crevnu ishemiju i/ili edem crevnog zida, što dovodi do povećanog prodiranja bakterija u krvne sudove, povećavajući tako koncentraciju endotoksina u cirkulaciji. To može pokrenuti upalu kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom. Egzogeni faktori kao što su dijeta, izloženost bakterijskim infekcijama ili uzimanje lekova mogu smanjiti raznolikost crevne flore. Endogeni faktori kao što su akutna humoralna neravnoteža, hronična crevna kongestija odnosno ishemija-hipoksija, kiselinsko-bazni disbalans, oslabljena gastrointestinalna pokretljivost i nutritivni nedostatak mogu potencijalno promeniti crevnu floru [40]. Sa razvojem srčane insuficijencije, menjaju se i karakteristike zajednice bakterija. Studije su pokazale da se brojnost crevne flore kod pacijenata sa hroničnom srčanom insuficijencijom smanjila, a broj patogenih bakterija značajno se povećavao sa napredovanjem bolesti, uključujući *Campilobacter*, *Shigella*, *Salmonella*, *Iersinia enterocolitica* i *Candida* vrste [41,42,43]. Analiza

16SrRNA kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom izvestila je o smanjenju bakterija koje proizvode SCFA, kao što su *Eubacterium rectale* i *Dorea longicatena* [43]. Druga studija je pokazala da se sastav mikrobiote creva kod hronične srčane insuficijencije odlikuje smanjivanjem broja bakterija sa potencijalom za proizvodnju butirata [44]. Butirat vrši lokalne antiinflamatorne efekte u sluznici creva i stimuliše regulatorne T-ćelije [45]. Primećeno je da je brojnost mikrobioloških gena za LPS biosintezu i stvaranje TMAO povišena, a gena za butirat acetoacetat koenzim A transferaze (ključni enzim za proizvodnju butirata) smanjena u hroničnoj srčanoj insuficijenciji [41].

Primećeno je, takođe, da su pacijenti sa srčanom insuficijencijom i sa perifernim edemima imali viši nivo endotoksina i inflamatornih citokina u plazmi u poređenju sa pacijentima bez edema. Nakon kratkotrajne terapije diureticima, koncentracije endotoksina u serumu, ali ne i citokina, su se smanjile [46]. U drugoj studiji istraživači su potvrdili da su pacijenti sa srčanom insuficijencijom i smanjenim crevnim protokom krvi imali veće serumske koncentracije imunoglobulina A - anti-lipopolisaharida. U poređenju sa kontrolnom grupom, pacijenti su imali drugačiji sastav mikrobiote, broj korisnih bakterija se smanjio, a patogenih povećao [24]. Pojava i razvoj srčane insuficijencije mogu biti povezani sa smanjenjem bakterija koje proizvode SCFA i porastom bakterija koje proizvode TMAO, što može postati nova meta za lečenje srčane insuficijencije. Nedavno su prikazani efekti inhibitora enzima trimetilamin liaze koji u studijama na miševima pokazuju učinak sličan dejstvu anti-aterotrombotičkih agenasa. [47,48].

Mikrobiota creva i infarkt miokarda

Aterosklerotični plakovi sadrže bakterijsku DNK. Vrste bakterija koje se nalaze u aterosklerotskim plakovima, međutim, prisutne su i u crevima istih pojedinaca [18,19,36]. Studija iz Južne Koreje pokazuje da je tokom akutne faze STEMI u koronarnom trombu detektovano prisustvo bakterija (mikrobna rRNA). Mikrobiološki potpis u koronarnom trombu pokazao je korelaciju sa oralnim i crevnim mikrobiomom [20]. Iz ovoga se može zaključiti da crevne mikrobne zajednice mogu biti izvor bakterija u plaku, što može uticati na stabilnost plaka i razvoj kardiovaskularnih bolesti. Nedavno istraživanje na pacovima izvestilo je o povezanosti između crevne mikrobiote i obima infarkta miokarda [38,39]. Studija je proučavala Dahl S pacove (Dahl Salt Sensitive Rat- pacovi hranjeni hranom sa visokim sadržajem soli - 8% NaCl) koji su pili vodu za piće uz dodatak antibiotika vankomicina, koji je smanjio nivo cirkulišućeg leptina za 38%, prouzrokovao po obimu manji infarkt miokarda (smanjenje površine od 27%) i poboljšao obnavljanje postishemijske kontraktilnosti miokarda u poređenju sa kontrolnim životinjama koje nisu dobijale antibiotik. Vankomicin je izmenio obilnost crevnih bakterija i gljivica mereno količinom 16S i 18S rRNA [39].

U studijama na glodarima, primena *Lactobacillus plantarum* kao probiotika rezultirala je smanjenjem cirkulišućeg leptina za 41%, infarktom miokarda za 29% i boljim oporavkom kontraktilne funkcije miokarda za 23%. Međutim, ako su glodari pre studije primili leptin u dozi od 0,12 µg / kg i.v. zaštitni efekat probiotika na srce je bio poništen. Ova studija je prva koja je potvrdila direktnu vezu između promena crevne mikrobiote i infarkta miokarda. To pokazuje da dodatak probiotika može smanjiti stepen infarkta miokarda [46]. Druga studija na životinjskom modelu koja je koristila *Lactobacillus rhamnosus* pokazala je povoljan efekat na srčanu funkciju nakon veštački izazvanog infarkta miokarda [49].

Mikrobiota creva i metaboličke bolesti

Mnoga istraživanja pokazuju vezu između sastava crevne mikrobiote i metaboličkih poremećaja u organizmu [50,51,52]. Uloga mikrobiote creva u razvoju gojaznosti dokazana je studijama sprovedenim na obeskličenim miševima (germfree-GF-miševi) u poređenju sa konvencionalno gajenim miševima (CONV-R). Sterilni miševi bez klica se uzgajaju u izolatorima koji u potpunosti blokiraju izloženost mikroorganizmima, sa namerom da ih sačuvaju od otkrivenih bakterija, virusa i eukariotskih mikroba. CONV-R imaju 40% veći sadržaj telesne masti od GF-miševa, što je fenomen nezavisan od unosa hrane. Međutim, nakon kolonizacije GF-miševa crevnom florom koja dolazi od CONV-R miševa, uočen je značajan porast telesne težine i ~ 60% porast telesne masti, zajedno sa povećanom sintezom jetrenih triglicerida u primaocima fekalnog transplantata (GF miševi), nezavisno od unosa hrane i ukupne potrošnje energije [53]. Čini se da je mehanizam putem kojeg crevni mikrobi doprinose povećanoj apsorpciji energije stvaranjem kratkolančanih masnih kiselina (SCFA), što je rezultat hidrolize i fermentacije dijetalnih polisaharida. SCFA, kao što su propionat, butirat i acetat, vrše složene metaboličke akcije koje utiču na

apetit domaćina, vreme crevnog tranzita, apsorpciju i taloženje masti [52]. SCFA, takođe, povećavaju unutrašnju apsorpciju monosaharida stimulišući ekspresiju transportera natrijuma/glukoze 1. SCFA doprinose modulaciji apetita domaćina i unosu hrane u interakciji sa G-vezanim proteinima eksprimiranim enteroendokrinim ćelijama i promovišu oslobađanje glukagona sličnog peptida-1 (GLP-1) koji utiče na sitost. Pored toga, SCFA utiču na metabolizam lipida povećavajući lipogenezu i inhibirajući oksidaciju masnih kiselina [53]. Studije su dokazale specifične promene u sastavu mikrobiote creva kod genetski gojaznih miševa u poređenju sa genetski mršavim miševima, pokazujući smanjenje obilja *Bacteroidetes*-a za 50% i proporcionalno povećanje *Firmicutes*-a. Čini se da ove specifične promene doprinose povećanoj proizvodnji SCFA i nagomilavanju masti kod gojaznih miševa i kod GF miševa kolonizovanih mikrobiotom gojaznih miševa [54]. Postoje i drugi mogući mehanizmi. Dijeta sa visokim sadržajem masti pokazala je da povećava udeo gram-negativnih vrsta u mikrobioti creva, što doprinosi povećanoj apsorpciji crevnih fragmenata bakterija, poput lipopolisaharida (LPS) u crevima. Povećani nivoi LPS u cirkulaciji dovode do „metaboličke endotoksemije“ koja se manifestuje kao povećanje telesne težine, hiperglikemija natašte i hiperinsulinemija [55]. Sve je više dokaza koji ukazuju na to da dijeta sa visokim sadržajem masti promoviše promene u sastavu mikrobiote creva, ali je kasniji razvoj gojaznog fenotipa povezan sa metaboličkom endotoksemijom [56].

Poslednjih godina istraživači su, takođe, proučavali veze između disbioze i gojaznosti, dijabetesa tipa 2, dislipidemije i nealkoholne masne jetre (NASH) [50,51]. Početna ispitivanja na životinjama i ljudima podržala su povezanost između gojaznosti i obilja grupe bakterija *Firmicutes* u poređenju sa grupom *Bacteroidetes*; dijabetes tipa 2, međutim, povezan je sa smanjenim obiljem bakterija koje formiraju butirat i povećanim obiljem *Lactobacillus spp* [1,3,8,10]. Crevna mikrobiota je uključena u razvoj dislipidemija putem sekundarnih žučnih kiselina [52,53]. U istraživanju NASH-a utvrđeno je da neke bakterije (*Clostridium coccoides*, *Lactobacillus reuteri*, *Parabacteroides*) utiču na metabolizam masti, integritet crevnog zida i proces fibroze i tako utiču i na dislipidemiju [52].

Primena u praksi

Primeri kliničke korisnosti dugotrajne promene mikrobiote su: dijetetske mere, pre- i probiotička terapija, antibiotska terapija, unos ciljanih inhibitora enzima, fekalna mikrobna transplantacija itd. [57,58].

Istraživanja su pokazala da čak i petodnevna promena u ishrani dovodi do kratkotrajnog preuređivanja broja i vrsta crevnih mikroba [4]. Primer za to je prehrambeni pristup za zaustavljanje hipertenzije (DASH dijeta -Dietary Approaches to Stop Hypertension) koji se sastoje od obroka sa voćem, povrćem, integralnim žitaricama itd. [59]. Pacijenti u studiji na ovoj dijeti su pokazali poboljšanje kvaliteta života i bolju elastičnost arterijskih krvnih sudova nakon tri meseca pridržavanja mera [60]. Pored toga, opisano je da osobe koje se ne pridržavaju propisane dijete i imaju „zapadnjačku dijetu“ sa dosta masti i crvenog mesa imaju povišeni nivo TMAO u urinu u poređenju sa pacijentima koji se pridržavaju propisanog DASH režima [61,62]. Smanjen unos dijetalnih vlakna povezan je sa smanjenom bakterijskom proizvodnjom butirata masnih kiselina kratkog lanca, koji ima imuno-modulacione efekte u sluznici creva, a takođe služi i kao glavni energetski supstrat za kolonocite. Smanjenje nivoa butirata u crevima moglo bi da podstakne lokalnu upalu, pogorša disbiozu i doprinese oštećenju funkcije crevne barijere, što posledično dovodi do „curenja“ bakterijskih toksina kao što je LPS, što dodatno podstiče lokalnu i sistemsku upalu. Dijeta bogata vlaknima može poboljšati rast bakterija koje proizvode acetat, smanjiti visok krvni pritisak i sprečiti srčanu fibrozu i hipertrofiju [63].

Probiotici i prebiotici

Probiotici su živi mikroorganizmi koji, kada se daju u odgovarajućim količinama, domaćinu donose zdravstvenu korist [64]. Probiotici u kliničkoj upotrebi sadrže bakterijske i gljivične mikroorganizme, uključujući rodove *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* i gljivicu *Saccharomyces boulardii* [65]. Rezultati životinjskih modela sugerišu da bi određeni sojevi laktobacila mogli imati kardioprotektivne efekte. Pacovi lečeni suplementom koji sadrži *Lactobacillus plantarum 299v* pre podvezivanja koronarne arterije smanjili su veličinu infarkta i poboljšali funkciju leve komore [66]. Druga studija pokazala je slične kardioprotektivne rezultate na pacovskom modelu ishemije miokarda nakon suplementa sa *Lactobacillus rhamnosus GR-1* [67]. Pilot studija na ljudima izvestila je ne samo o smanjenom sistemskom zapaljenju, već i o poboljšanju ejsione frakcije leve komore nakon intervencije sa probiotičkim kvasnicama

Saccharomyces Boulardii kod pacijenata sa hroničnom srčanom insuficijencijom [68]. S obzirom na potencijalni klinički uticaj modulacije mikrobiota, kao i visok morbiditet i mortalitet od srčane insuficijencije, modulacija mikrobiote nije potpuno bez rizika [69]. Preporučuje se brižno kliničko praćenje i unapred definisane mere bezbednosti koje treba da slede iste standarde kao u drugim kliničkim ispitivanjima [70]. Ovo stoga što su nedavno prijavljeni genomska i epidemiološka dokaza o bakterijama probiotskih bakterija, odnosno o prenosu bakterija sa probiotičkih kapsula u krv kod pacijenata u jedinicama intenzivne nege [71].

Prebiotici su supstrati koje mikroorganizmi domaćina selektivno koriste i daju potencijalnu korist za zdravlje. Kao prebiotici najčešće se koriste dijetalna vlakna i oligosaharidi [72]. Većina savremenih studija obrade mikrobiote kod pacijenata sa kardiovaskularnim bolestima izveštava o iscrpljivanju mikroba sa kapacitetom stvaranja SCFA kao što je butirrat. Prebiotici koji promovišu mikrobiološku fermentaciju dijetalnih vlakana u SCFA mogu stoga biti od potencijalne koristi u poboljšanju metaboličke regulacije [73]. Neki prebiotici, poput inulina, imaju potencijal da se suprotstave štetnim efektima antibiotika promovisući raznolikost i funkcionalni kapacitet crevne mikrobiote [74]. Randomizovana studija sa suplementom hrane inulinom ili inulin-propionatnim estrom pokazala je smanjenje markera sistemske upale sa povećanim generisanjem SCFA propionata u debelom crevu [75]. Stoga su ciljanje proizvodnje mikrobioloških SCFA dodacima inulina ili drugih prebiotika atraktivna strategija za buduća ispitivanja kardiovaskularnih bolesti, mada trenutni naučni dokazi ne daju potvrđene preporuke za upotrebu probiotika ili prebiotika kao dopunske terapije kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom ili koronarnom bolešću.

Antibiotici. Upotreba antibiotika utiče na sastav, raznovrsnost i funkciju normalne flore [76]. Antibiotici su uspešno korišćeni na životinjskim modelima za smanjenje stepena oštećenja srčanih ćelija nakon infarkta miokarda [77,78]. Ranije studije kod pacijenata sa srčanom insuficijencijom, fokusirale su se na dekontaminaciju creva antibioticima širokog spektra radi smanjenja translokacije biotoma i bakterijske upale. Iako je ovaj pristup uspeo u smanjenju markera sistemske upale, klinički efekat nije dokazan [79,80]. U nedavnoj studiji je pokazano da je koktel oralnog antibiotika širokog spektra znatno povećao postinfarktnu rupturu i smrt u mišjem modelu ligacije koronarne arterije [81] što bi moglo da sugeriše da je za pravilan oporavak miokarda potrebna netaknuta mikrobna zajednica u vreme povrede miokarda. Ova studija je u suprotnosti sa prethodnim životinjskim eksperimentalnim modelom koji je pokazao da je oralni vankomicin smanjio veličinu infarkta i poboljšao postinfarktnu srčanu funkciju kod pacova [82], kao i sa studijom koja izveštava da je mešavina streptomcina, neomicina, polimiksina B i bacitracina smanjila veličinu infarkta zajedno sa promenama u metabolitima povezanim sa mikrobiotom [83]. Bez obzira na razlike, ove studije na životinjama snažno ukazuju na ulogu sastava mikrobiote creva u akutnom infarktu miokarda, ali smer promena mikrobiote i potencijalni metabolički ili inflamatorni putevi još nisu dobro poznati. Modifikovanje kardiovaskularnih bolesti antibiotskom terapijom nije nova ideja. Između 1995. i 2005. godine > 19 000 pacijenata bilo je uključeno u studiju lečenja pneumonije kod pacijenata sa koronarnom bolešću. Studija kod ovih bolesnika nije pokazala kliničku korist od antibiotske terapije u vezi sa koronarnom ishemijom [84]. Pored očiglednog rizika od antimikrobne rezistencije, nedavno su se pojavili i drugi sigurnosni problemi sa potencijalnim značajem za buduća ispitivanja. Nedavno je desetogodišnje praćenje pokazalo povećanu kardiovaskularnu smrt kod pacijenata sa stabilnom koronarnom bolešću koji su lečeni klaritromicinom [85] što je dovelo do upozorenja FDA 2018. godine o upotrebi klaritromicina kod pacijenata sa koronarnom bolešću. FDA savetuje oprez pre propisivanja antibiotika klaritromicina pacijentima sa srčanim oboljenjima zbog potencijalnog povećanog rizika od srčanih problema ili smrti koji mogu nastupiti godinama kasnije. (<https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-review-finds-additional-data-supports-potential-increased-long>).

U decembru 2018. godine, objavljeno je upozorenje FDA o upotrebi fluorohinolona ukazujući na mogućnost ruptura aorte i disekcije aorte kod pacijenata sa povećanim rizikom, kao što su stariji pacijenti sa hipertenzijom ili perifernom aterosklerotskom vaskularnom bolešću (<https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-drug-safety-communication-fda-review-finds-additional-data-supports-potential-increased-long>). Još jedna studija izvestila je o povećanom riziku od kardiovaskularnih događaja kod starijih žena sa povećanom kumulativnom izloženošću antibioticima u odrasloj dobi [86]. Objašnjenje za ovaj povećani rizik nije do kraja kod svih pacijenata poznato, ali bi moglo uključivati produženje QT-intervalu, aritmiju ili proinflatorne aktivnosti posredovane translokacijom mikrobiote creva, ili druge efekte posredovane crevnom mikrobiotom. S obzirom na ove sigurnosne probleme i nedostatak do kraja jasnog kliničkog

efekta o učinku antibiotika na mikrobiotu trebalo bi pojačati oprez u budućim studijama usmerenim na upotrebu antibiotika kod kardiovaskularnih bolesnika.

Ciljani inhibitori enzima. Pored napred navedene upotrebe TMA liaze [18] treba pomenuti rezultate studije u kojoj su miševi koristili analoge holina koji inhibiraju dejstvo enzima u metabolizmu TMA i time smanjuju koncentraciju TMAO u plazmi. Upotreba analoga holina bi, prema tome, mogla da omogući novi pristup smanjenju rizika za trombozu [69]. Još jedan zanimljiv aktivni sastojak koji deluje kao zaštitni faktor za crevnu sluznicu je Urolitin A (UroA) i njegov sintetički analog UAS03 koji poboljšavaju bliski ćelijski kontakt i funkciju gastrointestinalne barijere [87].

Fekalna mikroba transplantacija (FMT) je poslednjih godina među najpominjanijim intervencijama koje se koriste za saniranje disbioze creva. Uvođenje „dobrih“ bakterija uzetih od zdravih ispitanika u gastrointestinalni trakt pacijenata koji pate od crevne disbioze i njenih posledica je nova i efikasna terapijska strategija. U kliničkoj studiji koja je ispitivala osobe sa metaboličkim sindromom došlo je do značajno poboljšane osetljivost na insulin posle 6 nedelja FMT u kojoj su donori bili zdrave osobe osobe normalne telesne težine. Istovremeno FMT je povećala količinu bakterija koje proizvode butirrat [88]. Iako je prihvatanje terapijske upotrebe FMT sve prisutnije, kako zbog percepcije ove metode kao „prirodnog“ lečenja i relativno jeftine primene, odnos rizika i koristi posebno u bolestima KVS ostaje nedovoljno jasno definisan jer je objavljeno iskustvo sa FMT ograničeno, a ni pravna normativa ove terapije još nije precizno uređena. Dalje, postoji strah od zaraznog potencijala terapije, što je navelo istraživače da istraže upotrebu proizvoda „sintetičke stolice“ sa definisanom populacijom bakterija da bi ublažili takve probleme, a razmatra se i upotreba „smrznutog donorskog materijala nešto poput koncepta banke matičnih ćelija [89].

Zaključak

Nova saznanja i tehnologije značajno menjaju medicinsku doktrinu i omogućavaju novi, drugačiji pogled na telo, organe i zdravlje, kao i na uzročne faktore bolesti. Istraživanja u nedavnoj prošlosti i ponekad iznenađujući nalazi potvrdili su da crevna mikrobiota može uticati na zdravlje domaćina i pokrenuti bolest različitim patofiziološkim mehanizmima. Crevna mikrobiota i disbioza su područja istraživanja koja će u budućnosti verovatno promeniti neke danas uspostavljene metode prevencije i lečenja bolesti. Iako možemo da promenimo sastav mikrobiote pomoću prebiotika, probiotika, antibiotika, dijete i „ciljanih inhibitora enzima“, zasad ne možemo predvideti i detaljno proceniti sve efekte ovih intervencija u prevenciji različitih bolesti. Uz sve podatke dobijene u biomedicini poslednjih decenija, čini se neobičnim da je trebalo toliko vremena pre nego što su naučnici i kardiolozi počeli sistematski da se bave uticajem 2kg mikroorganizama koji nas kolonizuju i žive sa nama „u dobru i zlu“. Iako su predstavljeni samo neki mehanizmi koji povezuju crevnu mikrobiotu i pojedine kardiovaskularne bolesti, moramo biti svesni mogućnosti ovog istraživačkog područja u razvoju potencijalnih lekova u budućnosti. Novorazjašnjene veze između disbioze i patogeneze kardiovaskularnih bolesti nude nove mogućnosti za rano i ciljano delovanje.

P.S. Možda će nova istraživanja dovesti i do nove subspecializacije u internoj medicini koja će se (kako u svom predavanju na kongresu Internista 2019. godine anegdotski reče prof. Miodrag Krstić) zvati gastroenterokardiologija?

LITERATURA:

1. Mengchao Jin Mengchao Jin, Zhiyuan Qian, Jiayu Yin, Weiting Xu, and Xiang Zhou The role of intestinal microbiota in cardiovascular disease *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2019; 23(4): 2343–2350.
2. Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90(3):859-904. DOI: 10.1152/physrev.00045.2009 PMID: 20664075
3. Tang WH, Kitai T, Hazen SL. Gut Microbiota in Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res.* 2017;120(7):1183-96. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309715 PMID: 28360349
4. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014;505(7484):559-63. DOI: 10.1146/annurev-med-060513-093205 PMID: 25587655
5. Tamburini S, Shen N, Wu HC, Clemente JC. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med.* 2016;22(7):713-22. DOI: 10.1038/nm.4142 PMID: 27387886
6. Nallu A, Sharma S, Ramezani A, Muralidharan J, Raj D. Gut microbiome in chronic kidney disease: challenges and opportunities. *Transl Res.* 2017;179:24-37. DOI: 10.1016/j.trsl.2016.04.007 PMID: 27187743
7. Tang WH, Wang Z, Levison BS, Koeth RA, Britt EB, Fu X, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med.* 2013;368(17):1575-84. DOI: 10.1056/NEJMoa1109400 PMID: 23614584

8. Ahmadmehrabi S, Tang WH. Gut microbiome and its role in cardiovascular diseases. *Curr Opin Cardiol*. 2017;32(6):761-6. DOI: 10.1097/HCO.0000000000000445 PMID: 29023288
9. Yamashiro K, Tanaka R, Urabe T, Ueno Y, Yamashiro Y, Nomoto K, et al. Gut dysbiosis is associated with metabolism and systemic inflammation in patients with ischemic stroke. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171521. DOI: 10.1371/journal.pone.0171521 PMID: 28166278
10. Vinod N. The Novel Dimensions of Cardio-Metabolic Health: Gut Microbiota, Dysbiosis and its Fallouts. *Curre Res Diabetes & Obes J*. 2019;11(1):555805. DOI: 10.19080/CRDOJ.2019.11.555805
11. ANTAL, I., JELIĆ, M., SILA, S., KOLAČEK, S. i TAMBIĆ ANDRAŠEVIĆ, A. LJUDSKA MIKROBIOTA I MIKROBIOM. *Acta medica Croatica*, 2019;73(1),3-11. Preuzeto sa <https://hrcak.srce.hr/>
12. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med* 2016; 8 (1):51.
13. Qi Y, Aranda JM, Rodriguez V, Raizada MK, Pepine CJ. Impact of antibiotics on arterial blood pressure in a patient with resistant hypertension - A case report. *Int J Cardiol*. 2015;201:157-8. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.07.078 PMID: 26301638
14. Gomez-Arango LF, Barrett HL, McIntyre HD, Callaway LK, Morrison M, Dekker Nitert M; SPRING Trial Group. Increased Systolic and Diastolic Blood Pressure Is Associated With Altered Gut Microbiota Composition and Butyrate Production in Early Pregnancy. *Hypertension*. 2016;68(4):974-81. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07910 PMID: 27528065
15. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet*. 1999;353(9167):1838-42. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)09286-1 PMID: 10359409
16. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. *Diabetes*. 2007;56(7):1761-72. DOI: 10.2337/db06-1491 PMID: 17456850
17. Karlsson FH, Fåk F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun*. 2012;3(1):1245. DOI: 10.1038/ncomms2266 PMID: 23212374
18. Wang Z, Roberts A.B, Buffa J.A, Levison B.S, Zhu W, Org E, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell*. 2015;163:1585-1595.
19. Townsend MK, Aschard H, De Vivo I, Michels KB, Kraft P. Genomics, telomere length, epigenetics, and metabolomics in the nurses' health studies. *Am J Public Health* 2016;106(9): 1663-1668.
20. Ju Seung Kwun, Si-Hyuck Kang, Hyo-Jung Lee, Chang-Hwan Yoon, Jung-Won Suh, Young-Seok Cho, METAGENOMIC ANALYSIS OF MICROBIOTA IN PATIENTS WITH ST-SEGMENT ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION 2. ORAL, GUT, AND THROMBUS MICROBIOME IN ST-SEGMENT ELEVATION MYOCARDIAL INFARCTION 112JACC, 2020;75(11). Preuzeto 18.11.2020 sa <https://www.jacc.org/doi/pdf/10.1016/S0735-1097%2820%2930739-7>
21. Yamashiro K, Tanaka R, Urabe T, Ueno Y, Yamashiro Y, et al. Gut dysbiosis is associated with metabolism and systemic inflammation in patients with ischemic stroke. *PLoS One* 2017;12(2): e0171521.
22. Honour J The possible involvement of intestinal bacteria in steroidal hypertension. *Endocrinology* 1982;110(1): 285-287.
23. Yang T, Santisteban MM, Rodriguez V, Li E, Ahmari N, et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension* 2015;65(6):1331-1340.
24. Karbach SH, Schonfelder T, Brandao I, Wilms E, Hörmann N, et al. Gut microbiota promotes angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *J Am Heart Assoc* 2016;5(9): e003698.
25. Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Backhed F From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. *Cell* 2016;165(6): 1332-1345.
26. Rey FE, Faith JJ, Bain J, Muehlbauer MJ, Stevens RD, et al. Dissecting the in vivo metabolic potential of two human gut acetogens. *J Biol Chem* 2010;285(29): 22082-22090.
27. Louis P, Flint HJ Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environ Microbiol* 2017;19(1): 29-41.
28. Duncan SH, Barcenilla A, Stewart CS, Pryde SE, Flint HJ Acetate utilization and butyryl coenzyme A (CoA): acetate-CoA transferase in butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(10): 5186-5190.
29. Gomez-Arango LF, Barrett HL, McIntyre HD, Callaway LK, Morrison M, et al. Increased systolic and diastolic blood pressure is associated with altered gut microbiota composition and butyrate production in early pregnancy. *Hypertension* 2016;68(4): 974-981.
30. Marques FZ, Nelson E, Chu PY, Horlock D, Fiedler A, et al. High-fiber diet and acetate supplementation change the gut microbiota and prevent the development of hypertension and heart failure in hypertensive mice. *Circulation* 2017;135(10): 964-977.
31. Tan JK, McKenzie C, Marino E, Macia L, Mackay CR Metabolite-sensing G protein-coupled receptors-facilitators of diet-related immune regulation. *Annu Rev Immunol* 2017;35: 371-402.
32. Pluznick JL, Protzko RJ, Gevorgyan H, Peterlin Z, Sipos A, et al. Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proc Natl Acad Sci U.S.A* 2013;110(11): 4410-4415.
33. Natarajan N, Hori D, Flavahan S, Steppan J, Flavahan NA, et al. Microbial short chain fatty acid metabolites lower blood pressure via endothelial G protein-coupled receptor 41. *Physiol Genomics* 2016;48(11): 826-834.
34. Miyamoto J, Kasubuchi M, Nakajima A, Irie J, Itoh H, et al. The role of short-chain fatty acid on blood pressure regulation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2016;25(5): 379-383.
35. Packer CS, Rice AE, Johnson TC Oxidized low density lipoprotein (OX-LDL) induced arterial muscle contraction signaling mechanisms. *Open Hypertens J* 2014;6: 20-26.
36. Ma J, Li H. The Role of Gut Microbiota in Atherosclerosis and Hypertension. *Front Pharmacol*. 2018;9:1082. DOI: 10.3389/fphar.2018.01082 PMID: 30319417
37. Ott SJ, El Mokhtari NE, Musfeldt M, Hellmig S, Freitag S, Rehman A, et al. Detection of diverse bacterial signatures in atherosclerotic lesions of patients with coronary heart disease. *Circulation*. 2006;113(7):929-37. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.579979 PMID: 16490835

38. Lam V, Su J, Koprowski S, Hsu A, Tweddell JS, Rafiee P, et al. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *FASEB J.* 2012;26(4):1727-35. DOI: 10.1096/fj.11-197921 PMID: 22247331
39. Lam V, Su J, Hsu A, Gross GJ, Salzman NH, Baker JE. Intestinal Microbial Metabolites Are Linked to Severity of Myocardial Infarction in Rats. *PLoS One.* 2016;11(8):e0160840. DOI: 10.1371/journal.pone.0160840 PMID: 27505423
40. Gan XT, Ettinger G, Huang CX, Burton JP, Haist JV, Rajapurohitam V, et al. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat. *Circ Heart Fail.* 2014;7(3):491-9. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000978 PMID: 24625365
41. Patterson E, Cryan J. F., Fitzgerald G. F., Ross R. P., Dinan T. G., Stanton C. Gut microbiota, the pharmabiotics they produce and host health. *Proceedings of the Nutrition Society.* 2014;73(4):477-489. doi: 10.1017/S0029665114001426.
42. Pasini E, Aquilani R., Testa C., et al. Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. *JACC: Heart Failure.* 2016;4(3):220-227. doi: 10.1016/j.jchf.2015.10.009
43. Luedde M., Winkler T., Heinsen F. A., et al. Heart failure is associated with depletion of core intestinal microbiota. *ESC Heart Failure.* 2017;4(3):282-290. doi: 10.1002/ehf2.12155.
44. Kamo T., Akazawa H., Suda W., et al. Dysbiosis and compositional alterations with aging in the gut microbiota of patients with heart failure. *PLoS One.* 2017;12(3):e0174099. doi: 10.1371/journal.pone.0174099.
45. Kummel M., Mayerhofer C. C. K., Vestad B., et al. Gut microbiota signature in heart failure defined from profiling of 2 independent cohorts. *Journal of the American College of Cardiology.* 2018;71(10):1184-1186. doi: 10.1016/j.jacc.2017.12.057.
46. Arpaia N., Campbell C., Fan X., et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature.* 2013;504(7480):451-455. doi: 10.1038/nature12726
47. Kitai T, Kirsop J, Tang WH. Exploring the Microbiome in Heart Failure. *Curr Heart Fail Rep.* 2016;13(2):103-9. DOI: 10.1007/s11897-016-0285-9 PMID: 26886380
48. Tang WHW, Wang Z, Fan Y, Levison B, Hazen JE, Donahue LM, et al. Prognostic Value of Elevated Levels of Intestinal Microbe-Generated Metabolite trimethylamine-N-oxide in Patients With Heart Failure: Refining the Gut Hypothesis. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(18):1908-14. DOI: 10.1016/j.jacc.2014.02.617 PMID: 25444145
49. Skok P, Skok K. Prebavna cev in srčno-žilne bolezni – ali imajo kaj skupnega? *Zdrav Vestn.* 2020;89(9-10):528-38.
50. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(4):15718-15723.
51. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006;444(7122): 1027-1031.
52. Samuel BS, Shaito A, Motoike T, Rey FE, Backhed F, et al. Effects of the gut microbiota on host adiposity are modulated by the short-chain fatty-acid binding G protein-coupled receptor, Gpr41. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(43): 16767-16772.
53. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(3): 979-984.
54. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, et al. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102: 11070-11075.
55. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2007;56(7):1761-1772.
56. de La Serre CB, Ellis CL, Lee J, Hartman AL, Rutledge JC, et al. Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *Am J Physiol Gas-trointest Liver Physiol* 2010;299(4): G440-G448.
57. Harris K, Kassis A, Major G, Chou CJ. Is the gut microbiota a new factor contributing to obesity and its metabolic disorders?. *J Obes* 2012;2012: 879151. doi: 10.1155/2012/879151.
58. Jia Q, Li H, Zhou H, Zhang X, Zhang A, Xie Y, et al. Microbiota and irritable bowel syndrome: A critical inventory. *Cardiovasc Ther.* 2019;2019:5164298. DOI: 10.1155/2019/5164298 PMID: 31819762
59. Salehi-Abargouei A, Maghsoudi Z, Shirani F, Azadbakht L. Effects of Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-style diet on fatal or nonfatal cardiovascular diseases—incidence: a systematic review and meta-analysis on observational prospective studies. *Nutrition.* 2013;29(4):611-8. DOI: 10.1016/j.nut.2012.12.018 PMID: 23466047
60. Rifai L, Pisano C, Hayden J, Sulo S, Silver MA. Impact of the DASH diet on endothelial function, exercise capacity, and quality of life in patients with heart failure. *Proc Bayl Univ Med Cent.* 2015;28(2):151-6. DOI: 10.1080/08998280.2015.11929216 PMID: 25829641
61. Lopez-Garcia E, Rodriguez-Artalejo F, Li TY, Fung TT, Li S, Willett WC, et al. The Mediterranean-style dietary pattern and mortality among men and women with cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(1):172-80. DOI: 10.3945/ajcn.113.068106 PMID: 24172306
62. De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Stora A, Laghi L, et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut.* 2016;65(11):1812-21. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-309957 PMID: 26416813
63. M. Trøseid et al. The gut microbiome in coronary artery disease and heart failure: Current knowledge and future directions Review| 2020;52:102649. Published: February 18, 2020 DOI:https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102649
64. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson G.R., Merenstein D.J., Pot B, et al. Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11:506-514.
65. Patel R, DuPont H.L. New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. *Clin Infect Dis.* 2015; 60: S108-S121.
66. Lam V, Su J, Koprowski S, Hsu A, Tweddell J.S., Rafiee P, et al. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *FASEB J.* 2012; 26: 1727-1735.

67. Gan X.T. Ettinger G. Huang C.X. Burton J.P. Haist J.V. Rajapurohitam V. et al. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat. *Circ Heart Fail.* 2014; 7: 491-499.
68. Costanza A.C. Moscovitch S.D. Faria Neto H.C. Mesquita E.T. Probiotic therapy with *saccharomyces boulardii* for heart failure patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *Int J Cardiol.* 2015; 179: 348-350.
69. He Z. Wang J. Chen Y. Cong X. Li N. Ding R. et al. Potential risk associated with direct modulation of the gut flora in patients with heart failure. *ESC Heart Fail.* 2019; 6: 555-556.
70. Mayerhofer C.C.K. Awoyemi A. Hov J.R. Troseid M. Broch K. Reply: potential risk associated with direct modulation of the gut flora in patients with heart failure. *ESC Heart Fail.* 2019; 6: 557-558.
71. Yelin I. Flett K.B. Merakou C. Mehrotra P. Stam J. Snesrud E. et al. Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nat Med.* 2019; 25: 1728-1732.
72. Gibson G.R. Hutkins R. Sanders M.E. Prescott S.L. Reimer R.A. Salminen S.J. et al. Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017; 14:491-502.
73. Chambers E.S. Preston T. Frost G. Morrison D.J. Role of gut microbiota-generated short-chain fatty acids in metabolic and cardiovascular health. *Curr Nutr Rep.* 2018; 7: 198-206.
74. Johnson L.P. Walton G.E. Psichas A. Frost G.S. Gibson G.R. Barraclough T.G. Prebiotics modulate the effects of antibiotics on gut microbial diversity and functioning in vitro. *Nutrients.* 2015; 7: 4480-4497.
75. Chambers E.S. Byrne C.S. Morrison D.J. Murphy K.G. Preston T. Tedford C. et al. Dietary supplementation with inulin-propionate ester or inulin improves insulin sensitivity in adults with overweight and obesity with distinct effects on the gut microbiota, plasma metabolome and systemic inflammatory responses: a randomised cross-over trial. *Gut.* 2019; 68: 1430-1438.
76. Lin PP, Hsieh YM, Kuo WW, Lin YM, Yeh YL, Lin CC, et al. Probiotic-fermented purple sweet potato yogurt activates compensatory IGF1R/PI3K/Akt survival pathways and attenuates cardiac apoptosis in the hearts of spontaneously hypertensive rats. *Int J Mol Med.* 2013;32(6):1319-28. DOI: 10.3892/ijmm.2013.1524 PMID: 24127171
77. Tiihonen K, Tynkkynen S, Ouweland A, Ahlroos T, Rautonen N. The effect of ageing with and without non-steroidal anti-inflammatory drugs on gastrointestinal microbiology and immunology. *Br J Nutr.* 2008;100(1):130-7. DOI: 10.1017/S000711450888871X PMID: 18279548
78. Zhou X, Li J, Guo J, Geng B, Ji W, Zhao Q, et al. Gut-dependent microbial translocation induces inflammation and cardiovascular events after ST-elevation myocardial infarction. *Microbiome.* 2018;6(1):66. DOI: 10.1186/s40168-018-0441-4 PMID: 29615110
79. Conraads V.M. Jorens P.G.De Clerck L.S.van Saene H.K. Ieven M.M. et al. Selective intestinal decontamination in advanced chronic heart failure: a pilot trial. *Eur J Heart Fail.* 2004; 6: 483-491.
80. Fox M.A.Peterson S. Fabri B.M. van Saene H.K. Selective decontamination of the digestive tract in cardiac surgical patients. *Crit Care Med.* 1991; 19: 1486-1490.
81. Tang T.W.H. Chen H.C. Chen C.Y. Yen C.Y.T. Lin C.J. Prajnamitra R.P. et al. Loss of gut microbiota alters immune system composition and cripples postinfarction cardiac repair. *Circulation.* 2019; 139: 647-659.
82. Lam V. Su J. Koprowski S. Hsu A. Tweddell J.S. Rafiee P. et al. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *FASEB J.* 2012; 26: 1727-1735.
83. Lam V. Su J. Hsu A. Gross G.J. Salzman N.H. Baker J.E. Intestinal microbial metabolites are linked to severity of myocardial infarction in rats. *PLoS ONE.* 2016; 11:e0160840.
84. Andraws R. Berger J.S. Brown D.L. Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA.* 2005; 293: 2641-2647.
85. Winkel P. Hilden J. Hansen J.F. Kastrup J. Kolmos H.J. Kjoller E. et al. Clarithromycin for stable coronary heart disease increases all-cause and cardiovascular mortality and cerebrovascular morbidity over 10 years in the claricor randomised, blinded clinical trial. *Int J Cardiol.* 2015; 182: 459-465.
86. Knoop K.A. McDonald K.G. Kulkarni D.H. Newberry R.D. Antibiotics promote inflammation through the translocation of native commensal colonic bacteria. *Gut.* 2016; 65: 1100-1109.
87. Colman RJ, Rubin DT. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis* 2014;8(12): 1569-1581.
88. Vrieze A, Van Nood E, Holleman F, Salojärvi J, Kootte RS, et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology* 2012;143(4): 913-916.
89. Petrof E, Gloor G, Vanner S, Weese SJ, Carter D, et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: 'repopulating' the gut. *Microbiome* 2013;1(1): 3.