

Značaj crijevne disbioze u kroničnoj bubrežnoj bolesti

Vukalović, Benjamin

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:524874>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-06-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
INTEGRIRANI PREDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Benjamin Vukalović

ZNAČAJ CRIJEVNE DISBIOZE U KRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

Diplomski rad

Rijeka, 2020.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
INTEGRIRANI PREDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Benjamin Vukalović

ZNAČAJ CRIJEVNE DISBIOZE U KRONIČNOJ BUBREŽNOJ BOLESTI

Diplomski rad

Rijeka, 2020.

Mentor rada: prof. dr. sc. Ivan Bubić, dr. med.

Diplomski rad ocjenjen je dana _____ 2020. godine

Na Medicinskom fakultetu u Rijeci pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Marina Bubonja Šonje, dr. med. (predsjednik Povjerenstva)

2. prof. dr. sc. Lidija Orlić, dr. med.

3. doc. dr. sc. Goran Poropat, dr. med.

Rad sadrži 32 stranice, 3 slike, 3 tablice, 83 literaturna navoda.

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Svrha rada	5
3. Pregled literature na zadanu temu	6
3.1. Crijevna disbioza u kroničnoj bubrežnoj bolesti.....	6
3.2. Patogeneza kronične bubrežne bolesti u crijevnoj disbiozi	7
3.2.1. Kratko lančane masne kiseline.....	10
3.2.2. Uremični milje	10
3.2.3. Liposaharidi	11
3.2.4. Bakterijski endotoksini	11
3.2.5. Disfunkcija crijevne barijere.....	13
3.3. Sistemski učinci uremičnih toksina.....	15
3.3.1. Učinak na fibrozu bubrega i progresiju KBB-a	15
3.4. Terapeutske intervencije za promijenjenu crijevnu mikrobiotu.....	16
3.4.1. Prehrambene intervencije.....	17
3.4.2. Probiotici i prebiotici	18
3.4.3. Aktivni ugljen	19
3.4.4. „Pametne“ bakterije	19
3.4.5. Transplantacija fekalne mikrobiote.....	19
4. Rasprava	21
5. Zaključak	22
6. Sažetak.....	23
7. Summary.....	24
8. Literatura	25
9. Životopis.....	32

POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

AER – stopa ekskrecije albumina (eng. albumin excretion rate)

CoA – koenzim A

FMT – transplantacija fekalne mikrobiote (eng. fecal microbiota transplantation)

GFR – brzina glomerularne filtracije (eng. glomerular filtration rate)

HDAC – histonska deacetilaza (eng. histone deacetylase)

IS – indoksil sulfat

KBB – kronična bubrežna bolest

LPS – liposaharidi

MW – molekularna masa (eng. molecular weight)

NF- κ B – nuklearni faktor kappa B (eng. nuclear factor kappa B)

p-CS – p-kresil sulfat

SCFA – kratko lančane masne kiseline (eng. short chain fatty acids)

TLR4 – toll-like receptor 4

TMAO – trimetilamin-N-oksid

TNF- α – tumor nekrotizirajući faktor alfa (eng. tumor necrosis factor alpha)

ZSBB – završni stadij bubrežne bolesti

1. Uvod

U posljednje vrijeme, zahvaljujući dvjema revolucijama u biologiji, postalo je očito da naš DNK ne govori cijelu priču o našoj individualnosti te da drugi čimbenici, kao što su okolišni, igraju važnu ulogu u ljudskom zdravlju i bolesti (1). Prvo, došlo je do razvoja epigenetike, koja je pokazala da promjena prehrane i načina života mogu uključivati i isključivati gene (2). Drugo, naše razumijevanje mikrobioma, odnosno načina kako promjene u crijevnoj flori u velikoj mjeri utječu na pojavu bolesti. Donedavno je jedina znana uloga debelog crijeva bila apsorpcija vode. O ulozi crijevnog flore se znalo jako malo. Dapače, samo uzgojiti crijevne bakterije u laboratoriju, je bio problem. Čak 99% svih crijevnih bakterija ne uspijeva rasti u standardnim laboratorijskim uvjetima (1). No, uz pomoć nove opreme za genetska testiranja danas već za manje od dva sata možemo utvrditi genom bakterije (3). U međuvremenu smo saznali da u našem crijevu žive milijarde bakterija. Jedan znanstvenik otišao je tako daleko i rekao da smo svi mi bakterija. Činjenica je da u našem vlastitom tijelu ima više bakterijskih stanica i bakterijskog genoma, nego što postoji ljudskih stanica i ljudskog genoma (4). Broj gena bakterijskog genoma jest oko 150 puta veći nego broj gena ljudskog genoma, oko 3.3 milijuna gena (5), a većina tih bakterija (više od 100 trilijuna) živi u našim crijevima. Čini se da sve životinje i biljke uspostavljaju simbiotske odnose s mikroorganizmima, a kod nas se naša crijevna flora može smatrati „zaboravljenim organom“ (6). Učinci naših „dobrih“ crijevnih bakterija na zdravlje uključuju jačanje imunološkog sustava, poboljšanje probave i apsorpcije, stvaranje vitamina i inhibiranje rasta potencijalnih patogena. No, ako se udio „loših“ bakterija povećava, one mogu stvarati kancerogene tvari, razne toksine koji mogu prijeći epitelnu barijeru te izazivati sistemske učinke, izazivati dijareu ili konstipaciju i uzrokovati crijevne infekcije (7). Znanstvenici su još uvijek u procesu otkrivanja koje su bakterije „dobre“, a koje „loše“. Postoji više od tisuću različitih vrsta bakterija koje žive u ljudskom crijevu. Na temelju proučavanja uzoraka stolice u blizanaca, koji su imali različite

prehrambene navike, te na temelju uzoraka stolice iz cijelog svijeta, postalo je očigledno da prehrana ima dominantnu ulogu u određivanju vrste bakterija koje obitavaju u našem debelom crijevu, i da se promjene crijevne flore, uslijed promjene načina prehrane, mogu dogoditi već u roku od nekoliko dana do tjedana (8). Utjecaj prehrane na zdravlje je vjerojatno jedan od najstarijih koncepata u medicini. Međutim, tek u nekoliko posljednjih godina naše je shvaćanje ljudske fiziologije naraslo do te mjere da smo počeli shvaćati kako pojedine prehrambene komponente utječu na pojavu ili odsustvo bolesti putem naših crijevnih bakterija.

Jedan od niza sistemskih poremećaja, koji se dovodi u svezu s crijevnom disbiozom, je i kronična bubrežna bolest (KBB) (9,10). Crijevna disbioza je također povezana i sa nizom ostalih bubrežnih bolesti, kao što su IgA nefropatija, lupus nefritis, nefrolitijaza i dijabetička nefropatija (11–14). KBB je termin koji se odnosi na promjene koje zahvaćaju strukturu i funkciju bubrega. Definicija KBB-a je temeljena na oštećenju bubrega (albuminurija) ili smanjenja bubrežne funkcije (brzina glomerularne filtracije $<60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$) u trajanju od najmanje 3 mjeseca koje ima posljedice na zdravlje. Prema Nacionalnoj renalnoj zakladi za smjernice za kroničnu bubrežnu bolest (eng. *National Kidney Foundation Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease*) KBB se klasificira u ukupno pet stadija, ovisno o brzini glomerularne filtracije (GFR) (Tablica 1.). Normalna funkcija bubrega je stadij 1, a krajnji stupanj bubrežne bolesti je stadij 5 (15). KBB je globalni zdravstveni problem s visokim stopama pobola i smrtnosti. Upotrebljavajući trenutne definicije prevalencija KBB-a u Sjedinjenim Američkim Državama u intervalu između 1999. i 2006. godine je bila 11.5% (od toga u 42% slučajeva GFR u stadiju 1 i 2, i u 58% slučajeva GFR u stadiju 3 i 4), što je istovjetno apsolutnom broju oboljelih od 23 milijuna (16). Dobno standardizirana globalna prevalencija KBB-a u 2010. je bila otprilike 10.4% za muškarce i 11.8% za žene (17). Završni stadij bubrežne bolesti (ZSBB) je stanje koje zahtijeva skupo bubrežno nadomjesno liječenje.

Broj pacijenata koji zahtjevaju taj vid liječenja (hemodijaliza, peritonealna dijaliza, transplantacija bubrega) se svake godine povećava za 10 – 15% (18).

Tablica 1. Klasifikacija kronične bubrežne bolesti s obzirom na brzinu glomerularne filtracije i albuminuriju

GFR stadij	GFR (mL/min/1.73m²)	Razina oštećenja
G1	≥ 90	Normalno
G2	60 do 80	Blago smanjeno
G3a	45 do 59	Blago do umjereno smanjeno
G3b	30 do 44	Umjereno do jako smanjeno
G4	15 do 29	Jako smanjeno
G5	< 15	Bubrežno zatajenje
Stadij albuminurije	AER (mg/dan)	
A1	< 30	Normalno
A2	30 do 300	Umjereno povišeno
A3	> 300	Jako povišeno

Progresivni pad bubrežne funkcije dovodi do nakupljanja metabolita organskih tvari, posebno derivata dušika, koji su inače normalno filtrirani putem bubrega. Pod tim uvjetima dolazi do „uremičkog stanja“. Dijabetes i hipertenzija su najčešći uzroci KBB-a na svjetskoj razini. Od ostalih uzroka KBB-a važno je spomenuti i policističnu bubrežnu bolest, glomerulonefritis i pijelonefritis. Najznačajniji uzrok smrti u pacijenata s KBB-om su kardiovaskularne bolesti (KVB) te je smrtnost od tih bolesti u ZSBB-pacijenata 500 puta viši nego u općoj populaciji. Intervencije u liječenju, koje djeluju na tradicionalne kardiovaskularne rizike (hipertenzija, diabetes melitus, dislipidemija), nisu imale željenu uspješnost u smanjenju incidencije kardiovaskularnih bolesti ili smanjenju progresije bolesti. Zbog toga se pretpostavlja da i netradicionalni rizici za KBB, čija se prevalencija povećava kako bubrežna funkcija opada (kronična upala, anemija, oksidacijski stres, endotelna disfunkcija i autonomna disfunkcija,

između ostalih), doprinose i povećanom riziku za kardiovaskularne bolesti i ubrzanom napredovanju KBB-a.

2. Svrha rada

Svrha diplomskog rada je obraditi trenutnu spoznaju o utjecaju crijevne mikrobiote na razvoj i napredovanje kronične bubrežne bolesti. Zbog trenutnog znanja samo o utjecaju crijevnih bakterija, a ne i ostalih mikroorganizama na pojavu bolesti, ovaj rad će se isključivo baviti utjecajem bakterija. Isto tako obradit će se moguće strategije sprječavanja i liječenja crijevne disbioze povezane s KBB-om, kao što su vrsta prehrane, prebiotici i probiotici, fekalna transplantacija fekalne mikrobiote i „pametne“ bakterije.

3. Pregled literature na zadanu temu

3.1. Crijevna disbioza u kroničnoj bubrežnoj bolesti

Broj bakterijskih koljena u crijevima je različit od čovjeka do čovjeka, ali u većine ljudi on iznosi više od 50 različitih bakterijskih koljena. Obilnost i različitost crijevnih bakterija ovisi i o lokalizaciji u gastrointestinalnom sustavu. Njihov broj se povećava od proksimalnih do distalnih dijelova te svoj maksimum dostiže u debelom crijevu, gdje je broj bakterija otprilike 10^{12} bakterijskih stanica/mL (19). U zdravlju crijevna mikrobiota živi u skladnom suživotu s domaćinom te imaju simbiotski odnos. U bolesti to ravnotežno stanje biva poremećeno te nastaje stanje disbioze. U tom stanju crijevna mikrobiota razvija kvalitativne i kvantitativne promjene u svojoj metaboličkoj aktivnosti te proizvodi štetne metabolite (20). Općenito, iako u crijevnoj mikrobioti čovjeka postoji više od 50 bakterijskih koljena, ona se dominantno sastoji od dva tipa bakterijskih koljena, *Firmicutes* i *Bacteroidetes* (21). *Bacteroidetes* se pak sastoji od nekoliko koljena, među kojima se kao dominantni ističu *Bacteroides* i *Prevotella*. Tako se svi ljudi mogu podijeliti na dvije skupine, na one koji dominantno imaju *Bacteroides* ili dominantno imaju *Prevotella* vrste (22). Prevalencija *Bacteroides* korelira s konzumacijom tvari iz hrane životinjskog podrijetla (kao što su zasićene masne kiseline, kolesterol i životinjski proteini), dok je *Prevotella* povezana s hranom s visokim udjelom vlakana, odnosno isključivo biljnom hranom (23). *Prevotella* je odgovorna za stvaranje kratko lančanih masnih kiselina (24). Ostala koljena uključuju *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria* i *Fusobacteria* (21). Poremećajem simbiotskog odnosa, koji egzistira pod normalnim uvjetima između crijevnih mikrobiote i domaćina, dolazi do produkcije i apsorpcije pro-upalnih i ostalih štetnih produkata, dok se u isto vrijeme ograničavaju korisne funkcije i produkti koji su producirani od strane normalne, „zdrave“ mikrobiote. Takvi događaji mogu dalje doprinijeti uremičkoj toksičnosti, upali i kardiovaskularnom riziku u pacijenata s KBB-om (25). Također, uzrok dijabetes melitusa (DM) i hipertenzije se može naći u crijevima, te je i na taj način KBB

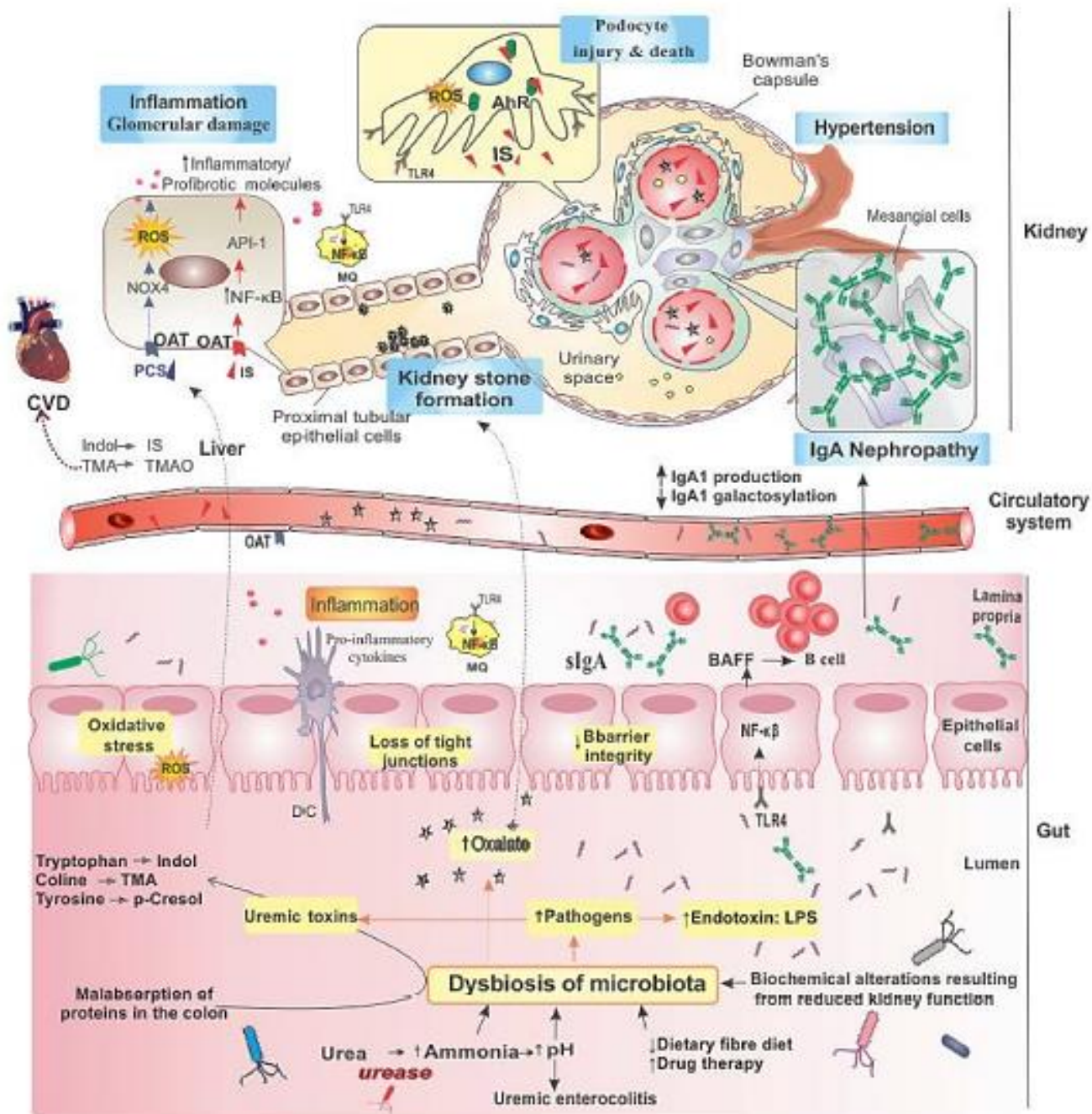
uzrokovan DM-om i hipertenzijom povezan s mikrobiotom (26). Simenhoff i suradnici su bili prvi koji su još 1970-tih napravili endoskopije pacijenata s KBB-om i pacijenata bez KBB-a, te demonstrirali promijenjenu crijevnu mikrobiotu u pacijenata s KBB-om (27).

3.2. Patogeneza kronične bubrežne bolesti u crijevnoj disbiozi

Crijevna disbioza kod KBB-a jest posljedica dvosmjernog odnosa između domaćina i crijevne mikrobiote. Kod KBB-a ona nastaje, kao posljedica stvaranja uremičnog miljea koji je posljedica KBB-a. No, također i zbog nedostatka nutritivnih tvari te uzimanja određenih lijekova. Kada postoji smanjen udio bakterija, koje normalno proizvode kratko lančane masne kiseline i ostale esencijalne nutrijente za epitel kolona, te povećan udio bakterija, koje proizvode uremične toksine, kao što su indoksil sulfat (IS), p-kresil sulfat (p-CS) i trimetilamin-N-oksid (TMAO), tada lakše dolazi do pojave KBB-a te njenog napredovanja i pojave sistemnih učinaka uremičnih toksina. Grupa istraživača sa Sveučilišta Kalifornija u Americi uspjela je, na temelju uzoraka stolice pacijenata na hemodijalizi i zdrave kontrolne grupe, identificirati pojedine bakterijske vrste koje se javljaju kod KBB-a (Tablica 2.) (25,28). Zbog upale crijevne stijenke i degradacije interstaničnih *zonae ocludens* dolazi do disfunkcije crijevne barijere te uremični toksini podrijetlom iz crijeva bivaju translocirani u krvotok i na taj način ostvaruju sistemne učinke. Visoke razine tih toksina povezane su s povećanom smrtnosti od KVB-a kod pacijenata s KBB-om (29). (Slika 1.)

Tablica 2. Crijevna mikrobiota u pacijenata s KBB-i pokazuje obitelji bakterija koje imaju veliki udio enzima triptofanaze, smanjen udio enzima koje formiraju kratkolančane masne kiseline i visok udio enzima ureaze.

Obitelji bakterija koje posjeduju visoki udio triptofanaze	Obitelji bakterija koje posjeduju smanjen udio enzima koji formira kratko lančane masne kiseline	Obitelji bakterija koje posjeduju visoki udio ureaze
<p><i>Clostridiaceae</i></p> <p><i>Enterobacteriaceae</i></p> <p><i>Verrucomicroblaceae</i></p>	<p><i>Lactobacillaceae</i></p> <p><i>Prevotellaceae</i></p>	<p><i>Alteromonadaceae</i></p> <p><i>Cellulornoadaceae</i></p> <p><i>Clostridiaceae</i></p> <p><i>Dermabacteraceae</i></p> <p><i>Enterobacteriaceae</i></p> <p><i>Halomonadaceae</i></p> <p><i>Methylococcaceae</i></p> <p><i>Micrococcaceae</i></p> <p><i>Moraxellaceae</i></p> <p><i>Polyangiaceae</i></p> <p><i>Pseudomonadaceae</i></p> <p><i>Xanthomonadaceae</i></p>
<p>Povećan indoksil sulfat i p-kresil sulfat</p>	<p>Smanjena produkcija kratko lančanih masnih kiselina</p>	<p>Povećan metabolizam ureje u amonijev hidroksid</p>



Slika 1. Patogeneza crijevne disbioze i kronične bubrežne bolesti. Postoji dvosmjerni odnos između domaćina i mikrobiote u pacijenata s KBB-om. KBB dovodi do dotoka ureje, mokraćne kiseline i oksalata u debelo crijevo što narušava sastav i metabolizam crijevne mikrobiote. S druge strane, ovi endotoksini su proizvod crijevne disbioze i prekomjernog rasta bakterija koje stvaraju ureazu. Velika količina $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{OH}$ nastala bakterijskom ureazom povisuje pH lumena i utječe na rast različitih bakterijskih zajednica. U kolonu i jetri, metaboliti dobiveni iz disbiotičnog crijeva (npr. fenoli i indoli) dalje prolaze svoj metabolizam te dolazi do stvaranja TMAO, p-CS i IS te oni isure u sistemnu cirkulaciju preko oštećene crijevne barijere. Akumulacijom PCS u bubrežima, tubularne stanice proizvode ROS koji dovodi do produkcije pro-upalnih citokina i profibrotičkih čimbenika što rezultira oštećenjem stanica. Nadalje, OAT receptori koji su lokalizirani na bazolateralnoj membrani proksimalnih tubularnih stanica, prihvaćaju IS te induciraju upalu i nefrotoksičnost. Derivati metabolita crijevne disbioze su također uključeni u hiperprodukciju i hipogalaktosilaciju IgA1 i tako pridonose nastanku IgA nefropatije. Također, crijeva disbioza dovodi do redukcije SCFA proizvodnje. SCFA u normalnim okolnostima ima ulogu u kalibriranju krvnog tlaka i zaštitnu ulogu na bubrežne stanice (30). Skraćenice: AP-1: plasminogen activator inhibitor type 1, BAFF: B-cell activating factor, CVD: cardiovascular disease, DCs: dendritic cells, IS: indoxyl sulfate, LPS: lipopolysaccharides, MQ: macrophage, NF- κ B: nuclear factor kappa beta, OAT: organic anion transporter, p-CS: p-cresyl sulfate, ROS: reactive oxygen species, TLR4: toll-like receptor 4, TMA: trimethylamine, TMAO: trimethylamine-N-oxide, Trp: tryptophan, Tyr: tyrosine

3.2.1. Kratko lančane masne kiseline

Jedan od mehanizama, kojim je crijevna disbioza povezana s tim stanjima, je smanjena proizvodnja kratko lančanih masnih kiselina (eng. *Short-chain fatty acid*), kao što su acetat, propionat i butirat. SCFA su produkti fermentacije biljnih ugljikohidrata posredovane uglavnom *Bacteroidetes* i *Firmicutes*. Ti produkti igraju važnu ulogu u regulaciji homeostaze ljudskog tijela i progresije bolesti (31). SCFA služe kao ključni regulatori za modulaciju integriteta crijeva, homeostazu, imunološku funkciju i regulaciju krvnog tlaka. Stoga procesi, koji dovode do smanjenja proizvodnje SCFA, mogu zauzvrat negativno utjecati na pojavu raznih bolesti, kao što su upalne bolesti crijeva, kolorektalni karcinom, hipertenzija i KVB-i (32). Fekalnom analizom utvrđeno je da pacijenti na dijalizi pokazuju manji broj bakterija koje mogu producirati butirat, (28) u odnosu na pacijente koji nisu na dijalizi. Butirat služi kao izvor energije za epitel kolona. On se formira od dvije molekule acetil-CoA koje prelaze u formu β -hidroksibutiril CoA i krotonil CoA te preko butiril CoA napokon prelaze u strukturu butirata. Najvažnije bakterije, koje sudjeluju u njegovoj izgradnji, su *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia intestinalis* i pojedine *Clostridium* bakterije (33). Butirat služi kao inhibitor histonske deacetilaze (HDAC), djeluje zaštitno protiv metaboličkih promjena uzrokovanih prehranom s visokim udjelom masti (34), posjeduje protu-upalno djelovanje (35), produžuje život u eksperimentalnih miševa (36) i štiti od sarkopenije koja je prominentna kod KBB-bolesnika (37). Također, HDAC je ključan epigenetski regulator koji je povezan s bubrežnim zatajenjem (38).

3.2.2. Uremični milje

Jedan od čimbenika, koji doprinose disbiozi crijeva kod KBB-a, jest i uremični milje. Na primjer, bakterijska ureaza u crijevima hidrolizira ureu i stvara velike količine amonijaka i amonijevog hidroksida koji povećavaju luminalni pH i rezultiraju promjenom mikrobnog

sastava crijeva. Ostali čimbenici, koji potencijalno mogu pridonijeti promijeni mikrobiote crijeva, uključuju ograničeni unos prehrambenih vlakana, uporabu lijekova (npr. antibiotici, vezači fosfata i željezo) (39).

3.2.3. Liposaharidi

Liposaharidi (LPS) su dio stanične stijenke Gram negativnih bakterija. Ekspozicija ovom endotoksinu dovodi do pokretanja upalnog odgovora i oksidativnog stresa. Ono se događa kada se LPS vezuje za Toll-like receptor-4 (TLR4) na endotelnim stanicama i monocitima/makrofazima te na taj način dolazi do aktivacije nuklearnog čimbenika κ B (NF- κ B) i aktivacijskog proteina 1 (AP-1). To rezultira produkcijom pro-upalnih citokina, kemokina, adhezijskih molekula i reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) koji pak uzrokuju endotelnu disfunkciju i potiču aterosklerozu (40,41).

3.2.4. Bakterijski endotoksini

Uremički toksini se mogu klasificirati prema kemijskim karakteristikama koje utječu na njihov klirens za vrijeme dijalize ili ovisno o njihovom izvoru. Ukoliko ih klasificiramo prema prvoj karakteristikama, tada govorimo o ukupno tri kategorije. Oni se u ovisnosti o svojoj molekularnoj masi dijele na: male, topive u vodi molekule (molekularna masa (MW) <500 Da), srednje molekule (MW > 500 Da) i molekule koje su vezane za proteine. Ovisno o njihovom izvoru klasificiramo ih prema tvari iz koje su nastale (Tablica 3.) (42). Mikrobiota ima ulogu u metaboliziranju aminokiselina u vidu deaminacije i dekarboksilacije. Taj proces rezultira otpuštanjem hidrogenog sulfida od aminokiselina, koje posjeduju sulfidnu skupinu (metionin i cistein), i u stvaranju amonijaka i kratko lančanih masnih kiselina ili fenilnih spojeva (indol i p-kresil) od aromatskih amino kiselina (tirozin, fenilalanin i triptofan).

Tablica 3. Popis uremičkih toksina i njihova klasifikacija. Skraćenice: TMAO-trimethylamine N-oxide, PPC-phosphatidylcholine

Ime	Izvor	Klasa
Indoksil sulfat	Triptofan	Povezan s proteinima
Indol-3 acetat	Triptofan	Povezan s proteinima
p-kresil sulfat	Fenilalanin, tirozin	Povezan s proteinima
TMAO	Kolin, L-karnitin, PPC	Topiv u vodi
Fenilacetilglutamin	Fenilalanin	Topiv u vodi

Dekarboksilacija amino kiselina također rezultira formiranjem različitih amina koji služe kao prekursori za nitroamine (43). Kao što je navedeno u tablici 3, postoji trenutno pet znanih uremičkih toksina koji se povezuju sa sistemnim učincima na kardiovaskularni sustav i mortalitet kod KBB-a. IS i indol-3 acetat su uremički toksini koji su povezani s proteinima. Oni nastaju metaboliziranjem amino kiseline triptofan. Triptofan se metabolizira pomoću crijevnih bakterija i nakon apsorpcije prolazi proces sulfanizacije u jetri. Zbog svoje vrlo velike sklonosti ka vezivanju s albuminom, on se ne može učinkovito ukloniti konvencionalnom hemodijalizom. P-kresol je produkt metaboliziranja fenilalanina i tirozina pomoću anaerobnih crijevnih bakterija. Crijevna mikrobiota vrši proces konjugacije p-kresola te on postaje p-CS. TMAO je toksin podrijetlom iz crijeva koji je zapravo metabolit koji nastaje kada crijevne bakterije metaboliziraju kvartarne amine, kao što su fosfatidilkolin, betain ili L-karnitin. Glavni izvor tih kvartarnih amina su nutrijenti životinjskog podrijetla (meso i mliječni proizvodi). Njihov produkt je trimetilamin koji se onda u jetri pomoću flavin monooksigenaze pretvara u TMAO. Za razliku od većine ostalih toksina on nije vezan za proteine u krvi te se zbog toga uspješnije eliminira pomoću dijalize. Fenilacetilglutamin, koji je produkt fenilalanina, također spada u toksine koji u najvećem broju slučajeva mogu biti eliminirani dijalizom. To je zbog toga što je samo 20% ukupnog fenilacetilglutamina povezano s proteinima u krvi (42,44).

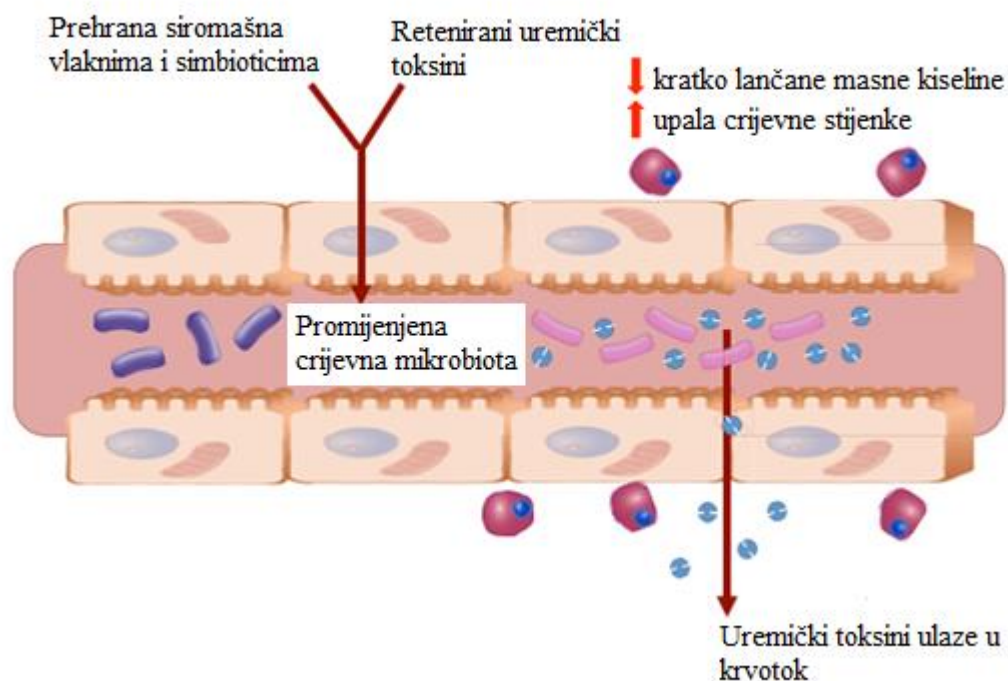
Razine cirkulirajućih toksina povećavaju se s težinom KBB-a. Najviše razine su prisutne kod pacijenata u ESRD-u (45). Kako bi dokazali da značajna frakcija uremičkih toksina ima svoj izvor u intestinalnom traktu, znanstvenici su usporedili njihove razine u tri skupine pacijenata: kod zdravih pojedinaca, kod pacijenata na hemodijalizi s intaktnim kolonom i pacijenata na hemodijalizi koji su bili podvrgnuti totalnoj kolektomiji. Upotrebljavajući masenu spektrometriju visoke rezolucije ovi istraživači su potvrdili da je debelo crijevo veliki izvor uremičkih toksina (46). Ovi podaci predstavljaju neosporiv dokaz da je mikrobiota crijeva izvor brojnih uremičkih toksina.

3.2.5. Disfunkcija crijevne barijere

Trenutno postoji mnogo dokaza koji upućuju na to da je crijevna barijera poremećena kod KBB-a. Posljedica oštećenja je translokacija uremičkih toksina, nastalih posredovanjem bakterija, u sistemsku cirkulaciju gdje oni izazivaju sustavnu upalu i leukocitnu stimulaciju. Milijarde bakterija u lumenu kolona su odvojene od sistemskog krvotoka samo sa slojem jednostaničnog epitela. U zdravim crijevima postoji barijera koja se sastoji od mukusa, defenzina i lektina koji služe kao obrana epitelu od direktnog kontakta s mikrobiotom. Vaziri i suradnici su još 1980-tih obdukcijama otkrili kroničnu upalu kroz cijeli gastrointestinalni trakt u pacijenata na hemodijalizi (47).

Od tog vremena postoje mnogo bolja saznanja u razumijevanju strukture i funkcije crijevno-epitelne barijere. Apikalni kompleks sastoji se od transmembranskih proteina koji uključuju kladine, E-kadherin i interstanične proteine, *zonae ocludens*. Studije su potvrdile da je KBB povezan s deplecijom tih proteina (43). Također, Shi i suradnici (48) su uspjeli detektirati bakterijsku DNA (većina je bila podrijetlom iz crijeva) u plazmi u 12 od 52 pacijenta na hemodijalizi. U studiji je potvrđeno i da bakterijska DNA u plazmi korelira s povišenjem razine C-reaktivnog proteina i interleukina-6, kao i biomarkera crijevne permeabilnosti D-laktat.

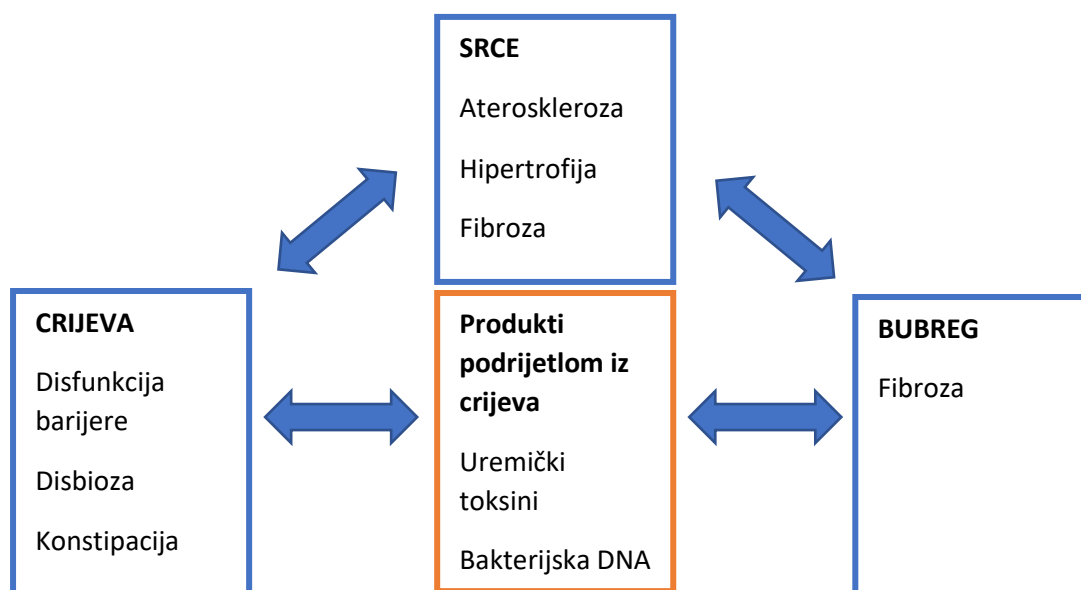
Postoji nekoliko mehanizama koji bi mogli sudjelovati u oštećivanju crijevne barijere. Nakon što urea difuzijom završi u lumenu kolona, metabolizira se dalje ureazom iz ondje pristunih bakterija te je metabolit, koji se stvara, amonijak potom hidroliziran u amonijev hidroksid. Velike količine amonijevog hidroksida mogu uzrokovati oštećenja *zonae ocludens* tako što uzrokuje depleciju okcludina, kladin-1, i ostalih proteina *zona ocludens*. Ta erozija epitelne barijere je stimulans za priljev leukocita koji pokreću sekundarni mehanizam oštećenja crijevne barijere. Način, na koji to čine, je taj da lokalna upala i citokini induciraju retrakciju i endocitozu okcludina i kladina (49). Rezultat povećanja propusnosti crijeva omogućuje zauzvrat premještanje toksina, fragmenata bakterija i cijelih bakterija kroz crijevnu stijenku u sistemsku cirkulaciju, što se smatra ključnim doprinosom aktivacije upalnog odgovora domaćina (Slika 2.) (43).



Slika 2. Priljev ureje i prehrana siromašna vlaknima dovodi do promjene crijevne mikrobiote. Disbiotična mikrobiota je povezana s kroničnom upalom duž gastrointestinalnog sustava, disrupcijom proteina *zonae ocludens*, smanjene produkcije kratko lančanih masnih kiselina (koje su važan izvor prehrane za enterocite) te proizvodnje uremičkih toksina kao što su indoksil sulfat i p-kresil sulfat. Ti uremički toksini bivaju translocirani u sistemski krvotok i induciraju razne sistemske učinke, između ostalog fibrozu bubrega (29).

3.3. Sistemski učinci uremičnih toksina

Kao što je već bilo navedeno, u zdravih pojedinaca uremički toksini, koje stvara crijevna mikrobiota (TMAO, p-CS, IS, amonijak i ostali), uspješno se odstranjuju putem bubrega. No, u pacijenata s KBB-om oni se nakupljaju u tjelesnim tekućinama te ostvaruju sistemske učinke. Između ostalog, dovode do progresije KBB-a (Slika 3.).



Slika 3. Shematski prikaz odnosa između crijeva, bubrega i srca (50). TMAO: trimethylamine-N-oxide

3.3.1. Učinak na fibrozu bubrega i progresiju KBB-a

TMAO je metabolit koji, kada se nađe u sistemoj cirkulaciji, potiče aterosklerozu i trombozu. Razine TMAO-a u plazmi koreliraju s petogodišnjim rizikom smrtnosti kod KBB- pacijenata. Dodavanje TMAO-a u prehranu životinjskih modela je pokazalo povećanu tubulointersticijsku fibrozu s progresivnim gubitkom bubrežne funkcije. (51) Također, koncentracija TMAO-a dobro korelira s pokazateljima sistemske upale i ona je neovisni prediktor smrtnosti pacijenata s KBB-om (51). U „Framingham Heart Study“, koja je uključivala 1434 sudionika s normalnom bubrežnom funkcijom na početku, povećan kolin i TMAO su bili predskazatelji

razvitka KBB-a (52). Mnoge studije do sada su pokazale smanjen rizik od KBB-a i KVB-a u vegetarijanaca i vegana. Obično se ta činjenica objašnjava niskom razinom unosa prehrambenog kolesterola i zasićenih masnih kiselina (53). No, kako znamo da se prekursori TMAO-a (L-karnitin i kolin) nalaze u životinjskim proizvodima, došlo se do zaključka kako bi i to mogao biti jedan od razloga zašto ta populacija ljudi ima smanjen rizik za nastanak KBB-a i KVB-a. IS pridonosi progresiji KVB-a i KBB-a. Iako vaskularni učinci mogu također utjecati na progresiju KBB-a, IS pokazuje i direktne učinke na bubrežne stanice. Ichii i suradnici (54) su proučavali toksični učinak IS na podocyte. Kontinuirana ekspozicija IS-om u miševima dovela je do povećanja aril hidrokarbon receptora (AhR) koji služi kao transkripcijski regulator u podocitima. To je dovelo do određenih patoloških promjena bazalne membrane, nožica podocita i formiranja citoplazmatskih vakuola (54). Također, pokazalo se da u tubularnim stanicama on povećava oksidacijski stres, upalu te ima profibrotički učinak (55). Ostala istraživanja su pokazala da također i p-CS inducira oksidacijski stres u humanim tubularnim stanicama (56).

3.4. Terapeutske intervencije za promijenjenu crijevnu mikrobiotu

Nova saznanja o ulozi crijevne mikrobiote u održavanju fizioloških mehanizama te saznanja o patološkim posljedicama disbiotične mikrobiote dovela su do istraživanja različitih načina na koji se promijenjena mikrobiota može ponovo vratiti u normalu. Većina terapijskih pristupa imaju za cilj modulirati mikrookoliš debelog crijeva ili pak smanjiti apsorpciju uremičkih toksina.

3.4.1. Prehrambene intervencije

Pacijentima s KBB-om obično se preporučuje prehrana niska kalijem i fosforom radi toga što su visoke razine tih elektrolita povezane s povećanim rizikom od smrtnosti. (57) Nažalost, takva prehrambena ograničenja mijenjaju sastav crijevne mikrobiote. Poglavitom restrikcijom kalija je protivna prehrani temeljenoj na cjelovitim biljnim namirnicama koja je povezana s boljim ishodom kod KBB-pacijenata (58–60). Također su te opservacijske studije potvrđene randomiziranim kliničkim studijama (61–63). Zbog takvih rezultata potrebna je revizija te ustaljene prakse preporuke prehrambenih ograničenja (64). Zaista, postoje prikazi slučajeva, koji povezuju hiperkalijemiju s prehrambenim navikama, ali su oni povezani s biljnim i voćnim sokovima, pretjeranom konzumacijom suhog voća i korištenjem dodataka prehrani koji sadrže velike količine kalija (65). Za ove tvari potrebno je ograničenje unosa. Međutim, pregledom literature nisu pronađene kliničke studije koje povezuju hiperkalijemiju s prehranom temeljenoj na cjelovitim biljnim namirnicama, osim jednog slučaja u kojem je pacijent već prije bolovao od renalne tubularne acidoze (66).

Znano je da su prehrambene navike ključni čimbenik promjene crijevne mikrobiote (23). Marques i suradnici (67) su proučavali utjecaj biljne prehrane na sastav mikrobiote u miševa te ga usporedili s kontrolnom skupinom. Biljna prehrana s visokim udjelom vlakana dovela je do smanjenja crijevne disbioze i povećanja prevalencija *Bacteroides* vrsta. U usporedbi s kontrolnom skupinom, to je dovelo do smanjenja sistoličkog i dijastoličkog tlaka, srčane fibroze i hipertrofije lijeve klijetke (67). Nekoliko studija je potvrdilo činjenicu da povišen unos proteina dovodi do povećane produkcije uremičkih toksina (68,69). Činjenica je da ovdje posebno dolazi do izražaja konzumacija crvenog mesa nakon koje se mjere povećane razine TMAO-a, IS-a i p-CS-a (70). Izbjegavanje unosa mesa i mesnih prerađevina bi zbog tih činjenica bila dobra strategija u smanjenju kardiovaskularnog rizika i progresije KBB-a (71). Patel i suradnici (69) su pokazali da je kod ispitanika s normalnim parametrima bubrežne

funkcije, stvaranje p-CS i IS bilo u prosjeku 60% niže kod vegetarijanaca, nego ispitanika koji su bili na nerestriktivnoj dijeti. Zaista, presječna studija je pokazala da su vegetarijanci na hemodijalizi, u usporedbi sa svejedima na hemodijalizi, imali niže razine IS-a i p-CS-a (68). Vjerojatni razlog je tome viša razina unosa vlakana i manja razina unosa proteina. No, važno je zapaziti da dobiti biljne prehrane nisu vjerojatno isključivo vezane za proteine i vlakna, već i za niz drugih aktivnih sastojaka koji su vezani za biljnu prehranu.

3.4.2. Probiotici i prebiotici

Brojni istraživači su testirali utjecaj probiotika na KBB s ciljem stvaranja manje patogene crijevne flore i sukladno tome manje uremičkih toksina. No, rezultati studija su bili različiti. Pilot studija na pacijentima u stadiju 3 i 4 KBB-a, u kojoj su pacijenti bili liječeni *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium longum*, dovela je nakon 6 mjeseci do značajnog smanjenja razine ureje u krvi i poboljšanja kvalitete života (72). No, randomizirana klinička studija nije pokazala iste rezultate (73). Nedostatak koristi od probiotika može se objasniti trajnim promjenama crijevnog miljea koje su inducirane uremijom, te prehranbenim režimima koji stvaraju nepovoljno okruženje za rast dobre mikrobiote (43). Slijedom toga, pokušaji obnove crijevne mikrobiote bez istodobnog poboljšanja biokemijskog profila crijevnog miljea su beskorisni (43). Kako bi se zaobišao ovaj problem, SYNERGY studija je ispitala utjecaj kombinacije probiotičke i prebiotičke terapije tijekom 6 tjedana kod pacijenata s KBB-om. Rezultati su bili smanjenje p-CS-a i poboljšanje profila crijevne mikrobiote (74). Potrebne su studije dužeg trajanja kako bi se bolje ispitalo utjecaj probiotičke i prebiotičke terapije na KBB.

3.4.3. Aktivni ugljen

Aktivni ugljen je u širokoj uporabi u liječenju akutnog trovanja. AST-120 je visoko potentan preparat aktivnog ugljena koji je u animalnim modelima pokazao mogućnost djelomične obnove proteina *zonae ocludens* i smanjenja upalnih markera kao što su endotoksin, IL-6 i TNF- α . (75) No, ti nalazi nisu bili potvrđeni u randomiziranim kliničkim studijama provedenim u Japanu i SAD-u (76,77).

3.4.4. „Pametne“ bakterije

Od nedavno, zahvaljujući napretku tehnologije, znanstvenici uspijevaju manipulirati crijevnim bakterijama. Ta činjenica predstavlja potencijalnu snažnu terapijsku strategiju u prevenciji i liječenju bolesti. Devlin i suradnici (78) su predložili inovativni način pristupa uremičkim toksinima. Oni su uklonili gene za triptofanazu, BT1492 u *Bacteroides* soju. Kolonizacija eksperimentalnih miševa tim mutantom dovela je do smanjenje razina IS-a (78). Relativno nedavno se pojavio taj koncept inženjeringa bakterija, odnosno stvaranja tzv. „pametne“ bakterije. Iako je to polje tek u začetku te je bazirano na genetičkim manipulacijama mikroorganizama, ono bi moglo u budućnosti potencijalno biti od koristi.

3.4.5. Transplantacija fekalne mikrobiote

Transplantacija fekalne mikrobiote (FMT) je proces u kojem se fekalne bakterije transplantiraju od zdravog pojedinca, darivatelja, u primatelja. FMT uključuje obnavljanje crijevne flore unosom zdrave bakterijske flore pomoću infuzije stolice. Uspjeh FMT-metode je najrašireniji kod liječenja infekcije *Clostridioides difficile*, gdje je ona uspješna u otprilike 80% slučajeva (79). Također, ovaj vid liječenja trenutno prolazi kroz evaluaciju i za niz drugih bolesti, kao što su upalne bolesti crijeva, autizam (80), maligne bolesti, dijabetes (81) i druge.

Zbog toga postoji potencijal i za ovaj vid liječenja kod pacijenata s KBB-om, ali, naravno, potrebno je učiniti dvostruko slijepe randomizirane kliničke studije kako bi se pokazalo postoji li korist FMT u bolesnika s KBB-om.

4. Rasprava

Još prije više od 2000 godina Hipokrat je ustvrdio kako: „Sve bolesti počinju u crijevima.“ Iako je povezanost između crijeva i pojavnosti bolesti znana već toliko dugo, tek nedavno je znanstvena zajednica pokazala interes za proučavanje crijevne mikrobiote. Broj znanstvenih radova, koji spominju riječ „mikrobiota“, se povećao od 75, 2001. godine do 13177, 2019. godine (82). Ta činjenica rezultirala je iznimnim napredovanjem u razumijevanju složene patofiziološke interakcije između crijeva i ostalih organa.

Razumijevanje utjecaja promijenjene crijevne mikrobiote na progresiju KBB-a, bilo da se radi o poticanju upale preko propusnosti crijeva, kroz stvaranje uremijskih toksina ili njihovih prekursora, ili pak smanjenom prisutnošću nefroprotektivnih molekula, može potencijalno uvelike pomoći pri liječenju pacijenata s KBB-om i dovesti do nekih novih terapijskih pristupa usmjerenih na usporavanje progresije KBB-a (50). Treba se sjetiti da čak i kod bolesnika na dijalizi usporavanje progresivnog gubitka ostatne bubrežne funkcije može imati značajan klinički utjecaj jer je ostatna bubrežna funkcija obrnuto proporcionalno sa smrtnošću. Raspon potencijalnih intervencija obuhvaća razne metode, a sve u svrhu promjene crijevne mikrobiote te povratak simbiotskog odnosa između crijevne mikrobiote i pacijenta ili pak smanjenja apsorpcije crijevnih toksina koji su derivati disbiotičnog crijevnog miljea (83). Zbog tih saznanja o utjecaju crijevne mikrobiote na razvitak i progresiju bolesti, manipulacija mikrobiotom ima veliki potencijal u liječenju i prevenciji KBB-a. Potrebno je provesti još više prekliničkih i kliničkih studija kako bi imali još jasniju sliku o patofiziološkim mehanizmima koji djeluju između crijeva – bubrega – srca.

5. Zaključak

Crijevni okoliš kod KBB-a je promijenjen zbog ograničene prehrane, dotoka ureje iz cirkulacije i primjene određenih lijekova. Takva promijenjena, disbiotična crijevna flora dovodi do produkcije uremičkih toksina, kao što su TMAO, IS, p-CS i mnogi drugi. Crijevna upala i oštećenje epitelne barijere dovodi do sistemske translokacije tih bakterijskih nusprodukata koji izazivaju oksidacijski stres te dovode do daljnje progresije KBB-a. Razine uremičkih toksina neovisno koreliraju s povećanim smrtnim rizikom.

6. Sažetak

Kod pacijenata, koji boluju od kronične bubrežne bolesti (KBB), također je pristutna disbioza crijeva. KBB i crijevna disbioza imaju dvosmjernan odnos, gdje jedno uzrokuje drugo i obratno. U disbiotičnim crijevima nalazimo smanjen broj korisnih bakterija koje proizvode kratko lančane masne kiseline koje su esencijalan nutrijent za epitel kolona. S druge strane, nalazimo i povećan broj bakterija koje proizvode uremičke toksine, kao što su trimetilamin-N-oksid, indoksil sulfat, p-kresil sulfat i ostali. Zbog crijevne upale i degradacije proteina *zonae ocludens* dolazi do translokacije tih toksina u sistemnu cirkulaciju, gdje oni ostvaruju učinke na većinu organskih sustava pa tako i na bubrege u vidu bubrežne fibroze. Više razine tih uremičkih toksina su povezane s većom razinom kardiovaskularnih događaja, od čega pacijenti s KBB-om najčešće umiru, te s ukupnim mortalitetom. Zbog svoje plastičnosti, mikrobiota predstavlja manipulativni „organ“. Postoji nekoliko načina koji su predloženi za manipulaciju tim „organom“. Oni uključuju prehrambene intervencije, prebiotici i probiotici, uporabu aktivnog ugljena te novije metode, kao što su transplantacija fekalne mikrobiote ili uporaba „pametnih“ bakterija. Kako bi još bolje shvatili ulogu crijevne mikrobiote u zdravlju i bolesti, potrebno je provesti još više bazičnih i kliničkih istraživanja.

Ključne riječi: kronična bubrežna bolest, mikrobiota, uremički toksini, oksidacijski stres

7. Summary

Patients who suffer from chronic kidney disease (CKD) often have abnormal gut flora. CKD and dysbiotic gut have bidirectional relationship, whereby one causes the other and the other way around. In dysbiotic gut there is lower number of beneficial bacteria which produce short chain fatty acids, which are essential nutrient for colonic epithelium. On the other hand, there is also increased number of those bacteria which produce uremic toxins, such as TMAO, indoxyl sulphate, p-cresyl sulphate and others. Because of gut inflammation and degradation of proteins that make *zonae ocludens* there is translocation of these toxins in system circulation where they produce effects on number of organ systems, including kidneys, where they promote kidney fibrosis. High levels of these uremic toxins correlate with higher incidence of cardiovascular events, which are the most common causes of death in CKD patients, as well as overall mortality. Because of its plasticity, gut microbiota can be called manipulative „organ“. There are several ways which are suggested in manipulation with these „organ“. Those are: nutrition interventions, prebiotics and probiotics, activated charcoal and some new methods like transplantation of fecal microbiota or use of „smart“ bacteria. In order to better understand the role of the intestinal microbiota in health and disease, even more basic and clinical research is needed.

Key words: chronic kidney disease, microbiota, uremic toxins. oxidative stress

8. Literatura

1. Tuohy K, Gougoulas C, Shen Q, Walton G, Fava F, Ramnani P. Studying the Human Gut Microbiota in the Trans-Omics Era - Focus on Metagenomics and Metabonomics. *Curr Pharm Des.* 2009 May 1;15(13):1415–27.
2. Ornish D, Magbanua MJM, Weidner G, Weinberg V, Kemp C, Green C, et al. Changes in prostate gene expression in men undergoing an intensive nutrition and lifestyle intervention. *Proc Natl Acad Sci.* 2008 Jun 17;105(24):8369–74.
3. Liu L, Li Y, Li S, Hu N, He Y, Pong R, et al. Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:1–11.
4. Sleator RD. The human superorganism – Of microbes and men. *Med Hypotheses.* 2010 Feb;74(2):214–5.
5. Ramezani A, Raj DS. The Gut Microbiome, Kidney Disease, and Targeted Interventions. *J Am Soc Nephrol.* 2014 Apr;25(4):657–70.
6. Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiol Rev.* 2008 Aug;32(5):723–35.
7. Saulnier D, Kolida S, Gibson G. Microbiology of the Human Intestinal Tract and Approaches for Its Dietary Modulation. *Curr Pharm Des.* 2009 May 1;15(13):1403–14.
8. Simões CD, Maukonen J, Kaprio J, Rissanen A, Pietiläinen KH, Saarela M. Habitual Dietary Intake Is Associated with Stool Microbiota Composition in Monozygotic Twins. *J Nutr.* 2013 Apr 1;143(4):417–23.
9. Ding R, Goh W-R, Wu R, Yue X, Luo X, Khine WWT, et al. Revisit gut microbiota and its impact on human health and disease. *J Food Drug Anal.* 2019 Jul;27(3):623–31.
10. Cosola C, Rocchetti MT, Cupisti A, Gesualdo L. Microbiota metabolites: Pivotal players of cardiovascular damage in chronic kidney disease. *Pharmacol Res.* 2018 Apr;130:132–42.
11. De Angelis M, Montemurno E, Piccolo M, Vannini L, Lauriero G, Maranzano V, et al. Microbiota and Metabolome Associated with Immunoglobulin A Nephropathy (IgAN). Moura IC, editor. *PLoS ONE.* 2014 Jun 12;9(6):e99006.
12. Ticinesi A, Milani C, Guerra A, Allegri F, Lauretani F, Nouvenne A, et al. Understanding the gut–kidney axis in nephrolithiasis: an analysis of the gut microbiota composition and functionality of stone formers. *Gut.* 2018 Dec;67(12):2097–106.
13. Rahbar Saadat Y, Hejazian M, Bastami M, Hosseinian Khatibi SM, Ardalan M, Zununi Vahed S. The role of microbiota in the pathogenesis of lupus: Dose it impact lupus nephritis? *Pharmacol Res.* 2019 Jan;139:191–8.

14. Fiaccadori E, Cosola C, Sabatino A. Targeting the Gut for Early Diagnosis, Prevention, and Cure of Diabetic Kidney Disease: Is the Phenyl Sulfate Story Another Step Forward? *Am J Kidney Dis.* 2020 Jan;75(1):144–7.
15. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. *Ann Intern Med.* 2003 Jul 15;139(2):137.
16. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Iii AFC, Feldman HI, Kusek JW, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. 2009;16.
17. Mills KT, Xu Y, Zhang W, Bundy JD, Chen C-S, Kelly TN, et al. A systematic analysis of worldwide population-based data on the global burden of chronic kidney disease in 2010. *Kidney Int.* 2015 Nov;88(5):950–7.
18. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet.* 2012 Dec;380(9859):2095–128.
19. Wing MR, Patel SS, Ramezani A, Raj DS. Gut microbiome in chronic kidney disease: Gut microbiome in chronic kidney disease. *Exp Physiol.* 2016 Apr 1;101(4):471–7.
20. Holzapfel WH, Haberer P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JHJ. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol.* 1998 May;41(2):85–101.
21. Eckburg PB. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science.* 2005 Jun 10;308(5728):1635–8.
22. MetaHIT Consortium (additional members), Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011 May;473(7346):174–80.
23. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science.* 2011 Oct 7;334(6052):105–8.
24. Chen T, Long W, Zhang C, Liu S, Zhao L, Hamaker BR. Fiber-utilizing capacity varies in *Prevotella*- versus *Bacteroides*-dominated gut microbiota. *Sci Rep.* 2017 Dec;7(1):2594.
25. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, Piceno YM, Yuan J, DeSantis TZ, et al. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int.* 2013 Feb;83(2):308–15.
26. Felizardo RJF, Castoldi A, Andrade-Oliveira V, Câmara NOS. The microbiota and chronic kidney diseases: a double-edged sword. *Clin Transl Immunol.* 2016 Jun 10;5(6):e86.
27. Simenhoff ML, Saukkonen JJ, Burke JF, Wesson, jr. LG, Schaedler RW, Gordon SJ. Bacterial Populations of the Small Intestine in Uremia. *Nephron.* 1978;22(1–3):63–8.

28. Wong J, Piceno YM, DeSantis TZ, Pahl M, Andersen GL, Vaziri ND. Expansion of Urease- and Uricase-Containing, Indole- and p-Cresol-Forming and Contraction of Short-Chain Fatty Acid-Producing Intestinal Microbiota in ESRD. *Am J Nephrol*. 2014;39(3):230–7.
29. Lau WL, Savoj J, Nakata MB, Vaziri ND. Altered microbiome in chronic kidney disease: systemic effects of gut-derived uremic toxins. *Clin Sci*. 2018 Mar 15;132(5):509–22.
30. Mahmoodpoor F, Rahbar Saadat Y, Barzegari A, Ardalan M, Zununi Vahed S. The impact of gut microbiota on kidney function and pathogenesis. *Biomed Pharmacother*. 2017 Sep;93:412–9.
31. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-Gut Microbiota Metabolic Interactions. *Science*. 2012 Jun 8;336(6086):1262–7.
32. Feng W, Ao H, Peng C. Gut Microbiota, Short-Chain Fatty Acids, and Herbal Medicines. *Front Pharmacol*. 2018 Nov 23;9:1354.
33. Pryde SE, Duncan SH, Hold GL, Stewart CS, Flint HJ. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett*. 2002 Dec;217(2):133–9.
34. Gao Z, Yin J, Zhang J, Ward RE, Martin RJ, Lefevre M, et al. Butyrate Improves Insulin Sensitivity and Increases Energy Expenditure in Mice. *Diabetes*. 2009 Jul 1;58(7):1509–17.
35. Maslowski KM, Vieira AT, Ng A, Kranich J, Sierro F, Di Yu, et al. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*. 2009 Oct;461(7268):1282–6.
36. Krishnan V, Chow MZY, Wang Z, Zhang L, Liu B, Liu X, et al. Histone H4 lysine 16 hypoacetylation is associated with defective DNA repair and premature senescence in Zmpste24-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci*. 2011 Jul 26;108(30):12325–30.
37. Walsh ME, Bhattacharya A, Sataranatarajan K, Qaisar R, Sloane L, Rahman MM, et al. The histone deacetylase inhibitor butyrate improves metabolism and reduces muscle atrophy during aging. *Aging Cell*. 2015 Dec;14(6):957–70.
38. Fontecha-Barriuso M, Martin-Sanchez D, Ruiz-Andres O, Poveda J, Sanchez-Niño MD, Valiño-Rivas L, et al. Targeting epigenetic DNA and histone modifications to treat kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2018 Nov 1;33(11):1875–86.
39. Vaziri ND. CKD impairs barrier function and alters microbial flora of the intestine: a major link to inflammation and uremic toxicity. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2012 Nov;21(6):587–92.
40. Sivapalaratnam S, Farrugia R, Nieuwdorp M, Langford CF, van Beem RT, Maiwald S, et al. Identification of candidate genes linking systemic inflammation to atherosclerosis; results of a human in vivo LPS infusion study. *BMC Med Genomics*. 2011 Dec;4(1):64.
41. Muccioli GG, Naslain D, Bäckhed F, Reigstad CS, Lambert DM, Delzenne NM, et al. The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Mol Syst Biol*. 2010 Jan;6(1):392.

42. Duranton F, Cohen G, De Smet R, Rodriguez M, Jankowski J, Vanholder R, et al. Normal and Pathologic Concentrations of Uremic Toxins. *J Am Soc Nephrol*. 2012 Jul;23(7):1258–70.
43. Vaziri ND, Zhao Y-Y, Pahl MV. Altered intestinal microbial flora and impaired epithelial barrier structure and function in CKD: the nature, mechanisms, consequences and potential treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 2016 May;31(5):737–46.
44. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: Classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int*. 2003 May;63(5):1934–43.
45. McIntyre CW, Harrison LEA, Eldehni MT, Jefferies HJ, Szeto C-C, John SG, et al. Circulating Endotoxemia: A Novel Factor in Systemic Inflammation and Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011 Jan;6(1):133–41.
46. Aronov PA, Luo FJ-G, Plummer NS, Quan Z, Holmes S, Hostetter TH, et al. Colonic Contribution to Uremic Solutes. *J Am Soc Nephrol*. 2011 Sep;22(9):1769–76.
47. Vaziri ND, Dure-Smith B, Miller R, Mirahmadi MK. Pathology of Gastrointestinal Tract in Chronic Hemodialysis Patients: An Autopsy Study of 78 Cases. *Am J Gastroenterol*. 1985 Aug;80(8):608–11.
48. Shi K, Wang F, Jiang H, Liu H, Wei M, Wang Z, et al. Gut Bacterial Translocation May Aggravate Microinflammation in Hemodialysis Patients. *Dig Dis Sci*. 2014 Sep;59(9):2109–17.
49. Vaziri ND, Yuan J, Norris K. Role of Urea in Intestinal Barrier Dysfunction and Disruption of Epithelial Tight Junction in Chronic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2013;37(1):1–6.
50. Sumida K, Kovesdy C. The gut–kidney–heart axis in chronic kidney disease. *Physiol Int*. 2019 Sep 1;106(3):195–206.
51. Tang WHW, Wang Z, Kennedy DJ, Wu Y, Buffa JA, Agatista-Boyle B, et al. Gut Microbiota-Dependent Trimethylamine *N*-Oxide (TMAO) Pathway Contributes to Both Development of Renal Insufficiency and Mortality Risk in Chronic Kidney Disease. *Circ Res*. 2015 Jan 30;116(3):448–55.
52. Rhee EP, Clish CB, Ghorbani A, Larson MG, Elmariah S, McCabe E, et al. A Combined Epidemiologic and Metabolomic Approach Improves CKD Prediction. *J Am Soc Nephrol*. 2013 Aug;24(8):1330–8.
53. Fraser GE. Vegetarian diets: what do we know of their effects on common chronic diseases? *Am J Clin Nutr*. 2009 May 1;89(5):1607S-1612S.
54. Ichii O, Otsuka-Kanazawa S, Nakamura T, Ueno M, Kon Y, Chen W, et al. Podocyte Injury Caused by Indoxyl Sulfate, a Uremic Toxin and Aryl-Hydrocarbon Receptor Ligand. Rastaldi MP, editor. *PLoS ONE*. 2014 Sep 22;9(9):e108448.

55. Vanholder R, Schepers E, Pletinck A, Nagler EV, Glorieux G. The Uremic Toxicity of Indoxyl Sulfate and p-Cresyl Sulfate: A Systematic Review. *J Am Soc Nephrol*. 2014 Sep;25(9):1897–907.
56. Watanabe H, Miyamoto Y, Honda D, Tanaka H, Wu Q, Endo M, et al. p -Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress by activation of NADPH oxidase. *Kidney Int*. 2013 Apr;83(4):582–92.
57. Kalantar-Zadeh K, Tortorici AR, Chen JLT, Kamgar M, Lau W-L, Moradi H, et al. Dietary Restrictions in Dialysis Patients: Is There Anything Left to Eat? *Semin Dial*. 2015 Mar;28(2):159–68.
58. Nettleton JA, Steffen LM, Palmas W, Burke GL, Jacobs DR. Associations between microalbuminuria and animal foods, plant foods, and dietary patterns in the Multiethnic Study of Atherosclerosis. *Am J Clin Nutr*. 2008 Jun 1;87(6):1825–36.
59. Yuzbashian E, Asghari G, Mirmiran P, Hosseini F-S, Azizi F. Associations of dietary macronutrients with glomerular filtration rate and kidney dysfunction: Tehran lipid and glucose study. *J Nephrol*. 2015 Apr;28(2):173–80.
60. Oosterwijk MM, Soedamah-Muthu SS, Geleijnse JM, Bakker SJL, Navis G, Binnenmars SH, et al. High Dietary Intake of Vegetable Protein Is Associated With Lower Prevalence of Renal Function Impairment: Results of the Dutch DIALECT-1 Cohort. *Kidney Int Rep*. 2019 May;4(5):710–9.
61. Goraya N, Simoni J, Jo C, Wesson DE. Dietary acid reduction with fruits and vegetables or bicarbonate attenuates kidney injury in patients with a moderately reduced glomerular filtration rate due to hypertensive nephropathy. *Kidney Int*. 2012 Jan;81(1):86–93.
62. Goraya N, Simoni J, Jo C-H, Wesson DE. A Comparison of Treating Metabolic Acidosis in CKD Stage 4 Hypertensive Kidney Disease with Fruits and Vegetables or Sodium Bicarbonate. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013 Mar 7;8(3):371–81.
63. Goraya N, Simoni J, Jo C-H, Wesson DE. Treatment of metabolic acidosis in patients with stage 3 chronic kidney disease with fruits and vegetables or oral bicarbonate reduces urine angiotensinogen and preserves glomerular filtration rate. *Kidney Int*. 2014 Nov;86(5):1031–8.
64. Joshi S, Hashmi S, Shah S, Kalantar-Zadeh K. Plant-based diets for prevention and management of chronic kidney disease: *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2020 Jan;29(1):16–21.
65. te Dorsthorst RPM, Hendrikse J, Vervoorn MT, van Weperen VYH, van der Heyden MAG. Review of case reports on hyperkalemia induced by dietary intake: not restricted to chronic kidney disease patients. *Eur J Clin Nutr*. 2019 Jan;73(1):38–45.
66. Moorthi RN, Armstrong CLH, Janda K, Ponsler-Sipes K, Asplin JR, Moe SM. The Effect of a Diet Containing 70% Protein from Plants on Mineral Metabolism and Musculoskeletal Health in Chronic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2014;40(6):582–91.
67. Marques FZ, Nelson E, Chu P-Y, Horlock D, Fiedler A, Ziemann M, 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 Mar 7;135(10):964–77.
68. Kandouz S, Mohamed AS, Zheng Y, Sandeman S, Davenport A. Reduced protein bound uraemic toxins in vegetarian kidney failure patients treated by haemodiafiltration: Vegetarian diet and uraemic toxins. *Hemodial Int*. 2016 Oct;20(4):610–7.
 69. Patel KP, Luo FJ-G, Plummer NS, Hostetter TH, Meyer TW. The Production of p-Cresol Sulfate and Indoxyl Sulfate in Vegetarians Versus Omnivores. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012 Jun;7(6):982–8.
 70. Kitada M, Ogura Y, Monno I, Koya D. A Low-Protein Diet for Diabetic Kidney Disease: Its Effect and Molecular Mechanism, an Approach from Animal Studies. *Nutrients*. 2018 Apr 27;10(5):544.
 71. Mafra D, Borges NA, Cardozo LFM de F, Anjos JS, Black AP, Moraes C, et al. Red meat intake in chronic kidney disease patients: Two sides of the coin. *Nutrition*. 2018 Feb;46:26–32.
 72. Ranganathan N, Ranganathan P, Friedman EA, Joseph A, Delano B, Goldfarb DS, et al. Pilot study of probiotic dietary supplementation for promoting healthy kidney function in patients with chronic kidney disease. *Adv Ther*. 2010 Sep;27(9):634–47.
 73. Natarajan R, Pechenyak B, Vyas U, Ranganathan P, Weinberg A, Liang P, et al. Randomized Controlled Trial of Strain-Specific Probiotic Formulation (Renadyl) in Dialysis Patients. *BioMed Res Int*. 2014;2014:1–9.
 74. Rossi M, Johnson DW, Morrison M, Pascoe EM, Coombes JS, Forbes JM, et al. Synbiotics Easing Renal Failure by Improving Gut Microbiology (SYNERGY): A Randomized Trial. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2016 Feb 5;11(2):223–31.
 75. Vaziri ND, Yuan J, Khazaeli M, Masuda Y, Ichii H, Liu S. Oral Activated Charcoal Adsorbent (AST-120) Ameliorates Chronic Kidney Disease-Induced Intestinal Epithelial Barrier Disruption. *Am J Nephrol*. 2013;37(6):518–25.
 76. Akizawa T, Asano Y, Morita S, Wakita T, Onishi Y, Fukuhara S, et al. Effect of a Carbonaceous Oral Adsorbent on the Progression of CKD: A Multicenter, Randomized, Controlled Trial. *Am J Kidney Dis*. 2009 Sep;54(3):459–67.
 77. Schulman G, Berl T, Beck GJ, Remuzzi G, Ritz E, Arita K, et al. Randomized Placebo-Controlled EPPIC Trials of AST-120 in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2015 Jul;26(7):1732–46.
 78. Devlin AS, Marcobal A, Dodd D, Nayfach S, Plummer N, Meyer T, et al. Modulation of a Circulating Uremic Solute via Rational Genetic Manipulation of the Gut Microbiota. *Cell Host Microbe*. 2016 Dec;20(6):709–15.
 79. Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, Brill JV, Demarco DC, Franzos MA, et al. Treating *Clostridium difficile* Infection With Fecal Microbiota Transplantation. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011 Dec;9(12):1044–9.

80. Kang D-W, Adams JB, Gregory AC, Borody T, Chittick L, Fasano A, et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome*. 2017 Dec;5(1):10.
81. Vallianou NG, Stratigou T, Tsagarakis S. Microbiome and diabetes: Where are we now? *Diabetes Res Clin Pract*. 2018 Dec;146:111–8.
82. Esperr.github.io. 2020. *Pubmed By Year*. [online] Dostupno na: <<https://esperr.github.io/pubmed-by-year/?q1=microbiota&endyear=2019>> [Preuzeto 8. lipnja, 2020].
83. Liu X, Cao S, Zhang X. Modulation of Gut Microbiota–Brain Axis by Probiotics, Prebiotics, and Diet. *J Agric Food Chem*. 2015 Sep 16;63(36):7885–95.

9. Životopis

Benjamin Vukalović je rođen 26.04.1995. u Zagrebu. Djetinjstvo je proveo u Zlatar Bistrici i Križevcima. Osnovnu školu Vladimira Nazora u Križevcima završio je 2010. godine, nakon čega upisuje Gimnaziju Ivana Zakmardija Dijankovečkoga Križevci, prirodoslovno-matematički smjer. Gimnaziju završava 2014. godine polaganjem Državne mature te iste godine upisuje, kao redoviti student, Integrirani preddiplomski i diplomski studij sveučilišni studij medicine na Medicinskom fakultetu u Rijeci. Član je Planinarskog društva Kalnik u Križevcima te se aktivno bavi planinskim trčanjem na duge staze sudjelujući na brojnim utrkama. Tijekom studija je sudjelovao na brojnim kongresima i radionicama. Služi se naprednom razinom engleskog i njemačkog jezika te početnom razinom hebrejskog jezika.