

PROTEIINIEN FERMENTAATIO PAKSUSUOLESSA JA
VAIKUTUKSET PAKSUSUOLEN MIKROBIOMIIN

Hirvonen Anni
Kandidaatin tutkielma
Ravitsemustiede
Lääketieteen laitos
Terveystieteiden tiedekunta
Itä-Suomen yliopisto
Toukokuu 2018

Itä-Suomen yliopisto, Terveystieteiden tiedekunta
Kansanterveystieteen ja kliinisen ravitsemustieteen yksikkö
Ravitsemustiede
HIRVONEN ANNI M: Proteiinien fermentaatio paksusuolella ja vaikutukset paksusuolen mikrobiomiin
Kandidaatin tutkielma, 34 sivua
Ohjaajat: TtM Heli Virtanen, TtM Petra Kokko
Toukokuu 2018

Avainsanat: proteiinit, fermentointi, paksusuoli, mikrobisto

PROTEIINIEN FERMENTAATIO PAKSUSUOLESSA JA VAIKUTUKSET PAKSUSUOLEN MIKROBIOMIIN

Proteiinien fermentaatiolla tarkoitetaan paksusuolen mikrobien toimesta tapahtuvaa ravinnon imeytymättömien tai elimistön omien proteiinien hajotusta. Siihen vaikuttavat monet tekijät, kuten syödyn proteiinin määrä, sen imeytyvyys ohutsuolesta, ruoan valmistustapa ja muu syöty ruoka. Proteiinien fermentaatio voi muokata paksusuolen mikrobiomia, millä voi olla vaikutuksia terveyteen. Proteiinien fermentaation seurauksena syntyy myös monia aineenvaihdunnan tuotteita, joista osa saattaa olla terveydelle haitallisia.

Tämän kirjallisuuskatsauksen tavoitteena on tarkastella proteiinien fermentaatiota paksusuolella ja sen vaikutuksia paksusuolen mikrobiomiin. Kirjallisuuskatsauksessa keskitytään tarkemmin proteiinien fermentaation mikrobivaikutuksia käsitteleviin *in vitro*-eläin- ja ihmistutkimuksiin. Tuloksista nähdään, että proteiinien fermentaatio muuttaa paksusuolen mikrobikoostumusta. Proteiinien fermentaatio vähentää erityisesti hiilihydraatteja fermentoivien, terveydelle edullisten bakteerien, kuten *Roseburian* ja *Eubacterium rectalen*, määriä. Proteiinien fermentaatio näyttää myös lisäävän *Bacteroides*-suvun bakteerien kasvua, mutta tutkimustulokset eivät ole täysin yksimielisiä. *Bacteroides*-suvun bakteereista osa on patogeenisia ja osa symbioottisia. Erityisesti *in vitro*-, mutta myös eläintutkimusten perusteella proteiinien fermentaatio saattaa lisätä patogeenien kasvua paksusuolella. Ihmistutkimuksissa vastaavaa yhteyttä patogeenien ja proteiinien fermentaation välillä ei löydetty.

Kirjallisuuskatsauksen perusteella vaikuttaa siltä, että proteiinien fermentaatio voi johtaa haitallisiin mikrobimuutoksiin paksusuolella. Tutkimuksia aiheesta löytyy kuitenkin vähän ja aihe on melko huonosti tunnettu. *In vitro*-, eläin- ja ihmistutkimuksia tarvitaan lisää, jotta saadaan parempi käsitys siitä, mikä merkitys proteiinien fermentaatiolla on paksusuolen ja koko ihmisen terveydelle. Tarvitaan myös lisää pelkästään proteiinien fermentaatiota käsitteleviä tutkimuksia, joissa sekoittavat tekijät, kuten fermentoituvat hiilihydraatit, on paremmin huomioitu.

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO.....	4
2 PROTEIINIEN FERMENTAATIO	5
2.1 Yleistä proteiinien fermentaatiosta	5
2.2 Fermentaatioon vaikuttavat tekijät.....	6
3 FERMENTAATIOTUOTTEET.....	7
3.1 Yleistä fermentaatiotuotteista	7
3.2 Lyhyt- ja haaraketjuset rasvahapot	8
3.3 Fenolit ja indolit.....	9
3.4 N-nitrosoyhdisteet ja amiinit	9
3.5 Rikkivety.....	10
3.7 Fermentaation mittaaminen	10
4 PROTEIINIEN FERMENTAATION VAIKUTUKSET PAKSUSUOLEN MIKROBIOMIIN.....	11
4.1 Yleistä paksusuolen mikrobiomista.....	11
4.2 <i>In vitro</i> -tutkimukset	12
4.3 Eläintutkimukset	17
4.4 Ihmistutkimukset	21
5 POHDINTA.....	25
6 JOHTOPÄÄTÖKSET	29
LÄHTEET	30

1 JOHDANTO

Osa ruoan hiilihydraateista ja proteiineista jää ruoansulatuksessa imeytymättä ja päätyy paksusuoleen (Cummings 1997). Fermentaatiolla tarkoitetaan näiden ravintoaineiden hajotusta paksusuolen mikrobien toimesta. Fermentoituvien hiilihydraattien, kuten oligosakkaridien, resistentin tärkkelyksen ja kuidun, terveysvaikutukset ovat hyvin tunnettuja (Yao ym. 2016). Kuidun vaikutuksia muun muassa paksusuolen sairauksien ehkäisyssä on tutkittu paljon.

Proteiinien fermentaatio on puolestaan vähemmän tunnettu aihe (Yao ym. 2016). Toisin kuin hiilihydraateilla, proteiinien fermentaation seurauksena syntyvät aineenvaihduntatuotteet näyttävät tämänhetkisen tutkimustiedon pohjalta olevan haitallisia suoliston terveydelle. On esitetty, että näillä fermentaatiotuotteilla voisi olla yhteys muun muassa paksusuolen syövän, tulehduksellisten suolistosairauksien ja ärtyvän suolen oireyhtymän esiintyvyyteen. Proteiinien fermentaation yhteyttä suoliston sairauksiin ei kuitenkaan tunneta hyvin.

Proteiinien fermentaatiossa paksusuolen mikrobit hajottavat ravinnon imeytymättömiä tai elimistön omia proteiineja (Windey ym. 2012). Proteiinien fermentaatio tapahtuu pääosin paksusuolen loppupäässä, kun sulamattomat hiilihydraatit on käytetty loppuun. Fermentaation lopputuotteena syntyy muun muassa ammoniakkia, amiineja, fenoleja, sulfideita ja N-nitrosoyhdisteitä, jotka ovat mahdollisesti terveydelle haitallisia.

Suoliston mikrobeja tarvitaan muun muassa suoliston tasapainon ylläpitämiseen, ravintoaineiden imeytymisen tehostamiseen ja välttämättömien aminohappojen sekä vitamiinien tuotantoon (Ma ym. 2017). Proteiinien fermentaatio muokkaa paksusuolen mikrobiomia, millä voi olla monia vaikutuksia terveyteen. Runsas proteiinien fermentaatio paksusuolella on liitetty proteiineja hajottavien, proteolyyttisten bakteerien ja taudinaiheuttajabakteerien, patogeenien, kasvuun. Paksusuolen mikrobiston koostumus voi myös osaltaan vaikuttaa proteiinien fermentaatioon, eli vuorovaikutus mikrobien ja proteiinien fermentaation välillä on molemminpuolista.

Nykyisiin ruokatrendeihin kuuluu proteiinipitoisen ruoan suosiminen niin laihduttajien kuin urheilijoidenkin keskuudessa. Koska runsasproteiiniset ja vähähiilihydraattiset ruokavaliot ovat kasvattaneet suosiotaan, olisi niiden suolistovaikutuksia tärkeä tutkia lisää. Tämän kirjallisuuskatsauksen tavoitteena on tarkastella proteiinien fermentaatiota paksusuolella ja sen vaikutuksia paksusuolen mikrobiomiin. Luvussa 2 käsitellään yleisesti proteiinien

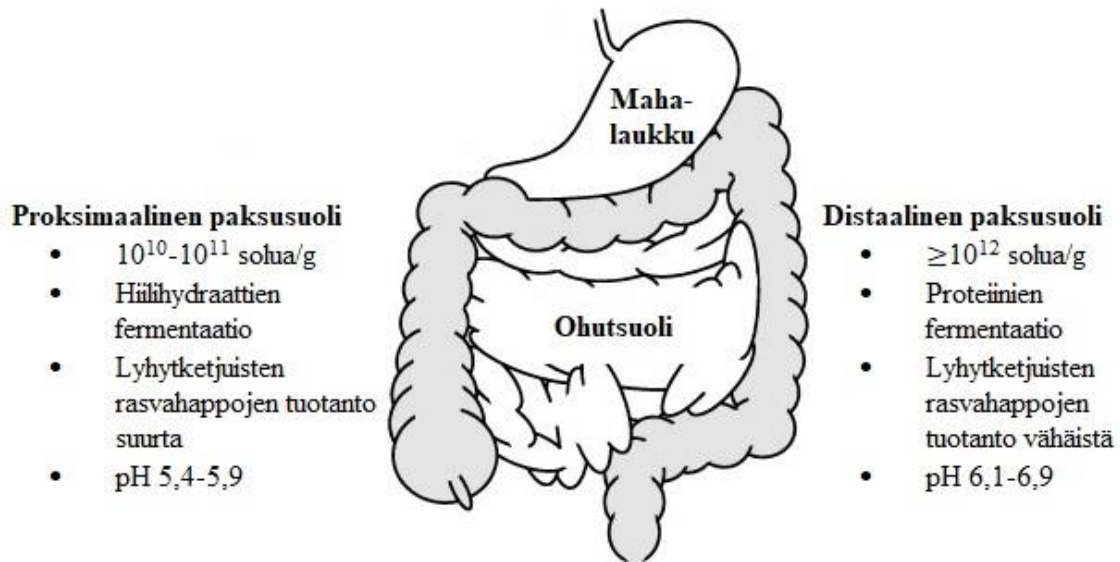
fermentaatiota, luvussa 3 fermentaatiotuotteita ja luvussa 4 fermentaation mikrobivaikutuksia. Kirjallisuuskatsauksessa keskitytään tarkemmin fermentaation mikrobivaikutuksiin. Tutkielman päättää pohdinta ja johtopäätökset.

2 PROTEIINIEN FERMENTAATIO

2.1 Yleistä proteiinien fermentaatiosta

Proteiinien fermentaatio tarkoittaa paksusuolen mikrobien avulla tapahtuvaa sulamattomien tai endogeenisten proteiinien hajotusta (Windey ym. 2012b). Endogeenisiä proteiineja ovat elimistön omat proteiinit kuten glykoproteiinit, ruoansulatuskanavan limakalvon proteiinit ja haiman erittämät proteiinit (Yao ym. 2016). Paksusuoleen päätyy ravinnon imeytymätöntä proteiinia 1–12 g ja endogeenisiä proteiineja 4–8 g päivässä (Aro ym. 2014).

Proteiinien hajotus alkaa paksusuolen mikrobien erittämien entsyymien, proteaasien ja peptidaasien, pilkkoessa proteiineja pienemmiksi peptideiksi ja aminohapoiksi (Windey ym. 2012b). Paksusuoleen päätyneet haiman proteaasit auttavat myös proteiinien hajotuksessa (Davila ym. 2013). Ruoan läpikulku-aika paksusuoleessa on hitaampaa verrattuna ohutsuoleen, mikä suosii bakteerien kasvua. Mikrobien tuottamat proteiineja hajottavat entsyymit ovat aktiivisempia neutraalissa kuin happamassa pH:ssa (Windey ym. 2012b). Proksimaalisessa paksusuolen alkuosassa hiilihydraattien fermentaation seurauksena syntyneiden lyhytketjuisten rasvahappojen takia pH on matala. Paksusuolen loppupäässä, distaalisessa osassa, fermentoitavat hiilihydraatit vähenevät, minkä seurauksena pH nousee ja proteiinien fermentaatio tehostuu (Kuva 1).



Kuva 1. Paksusuolen fermentaatio (mukaiillen Payne ym. 2011)

Paksusuolen bakteerit voivat käyttää vapaita aminohappoja suoraan rakennusainekseen tai jatkaa niiden hajotusta transaminaation, deaminaation tai dekarboksylaation avulla (Davila ym. 2013). Transaminaatiossa aminoryhmä siirtyy aminohapolta α -ketokarboksyylihapolle, jonka seurauksena syntyy uusi aminohappo ja α -ketokarboksyylihappo (Bender 2012). Deaminaatiossa aminohaposta poistetaan aminoryhmä ja dekarboksylaatiossa aminohaposta poistetaan karboksyyliryhmä. Deaminaasi- ja dekarboksylaasientsyymit ovat aminohapoille spesifisiä entsyymeitä eli ne eivät katalysoi muiden aineiden reaktioita (Davila ym. 2013). Paksusuolen mikrobit tuottavat entsyymien avulla aminohapoista erilaisia lopputuotteita. Esimerkiksi deaminaation avulla aminohapoista muodostuu paksusuoleessa ammoniakkia ja dekarboksylaatio johtaa amiinien sekä polyamiinien tuotantoon.

2.2 Fermentaatioon vaikuttavat tekijät

Paksusuoleen päätyvän proteiinin määrään vaikuttaa merkittävimmin syödyn proteiinin määrä ja sen imeytyvyys (Windey ym. 2012b). Mitä enemmän proteiinia syödään, sitä enemmän sitä jää imeytymättä elimistöön ruoansulatuksessa. Eläinperäisen proteiinien imeytyvyys, joka on yli 90 %, on yleensä parempi kuin kasviproteiinien, joka on 70–90 %. Kasviproteiineista keskimäärin suurempi osa päätyy paksusuoleen. Maidon proteiinit, hera ja kaseiini, vaikuttavat olevan hieman paremmin imeytyviä kuin lihan proteiinit.

Ruoan valmistustapa, prosessointi ja säilytys vaikuttavat proteiinien imeytymiseen (Gilbert ym. 2011). Esimerkiksi keittäminen parantaa usein kasviproteiinien imeytymistä. Toisaalta

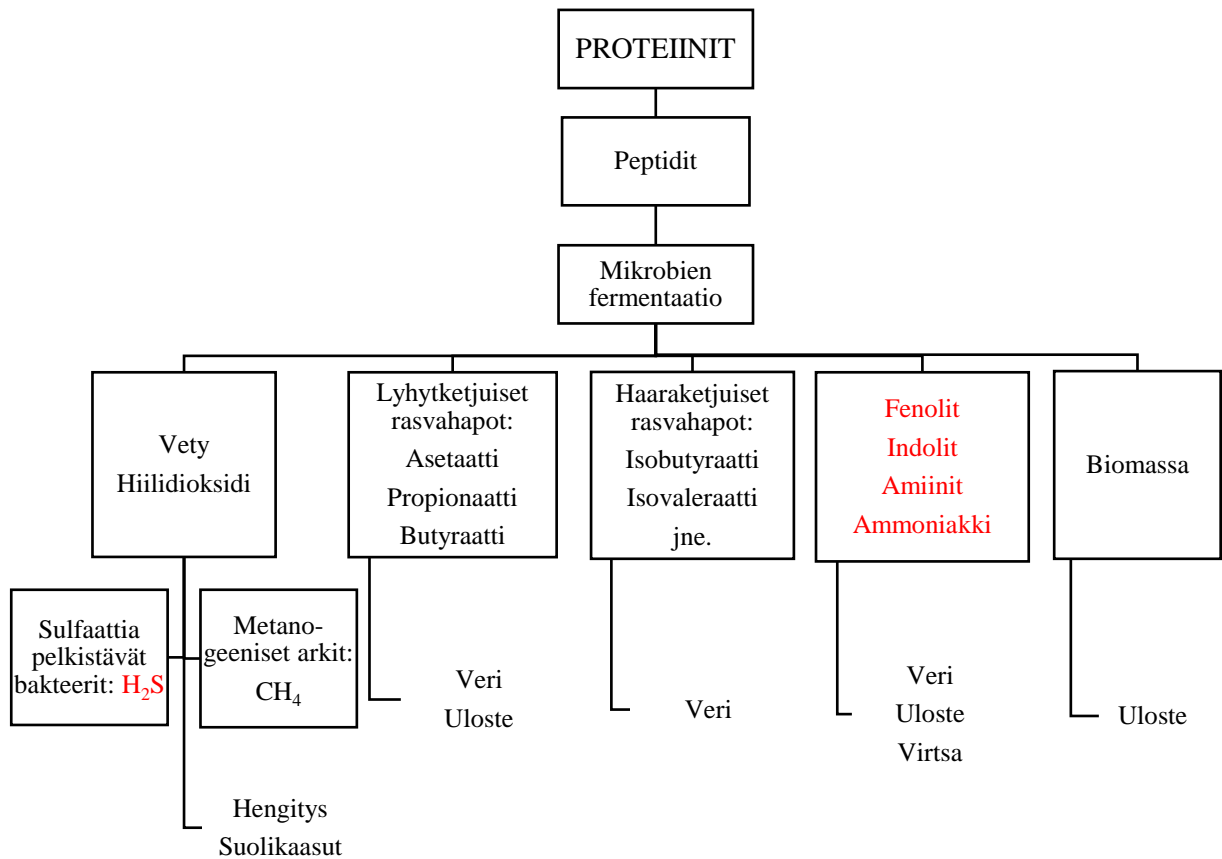
joidenkin proteiinien, kuten kaseiinin, lämpökäsittelyn on osoitettu heikentävän sen imeytymistä ruoansulatuksessa ja lisäävän fermentaatiota paksusuoleessa (Corpet ym. 1995). Kanamunan valkuaisen ja soijan proteiinien lämpökäsittelyllä todettiin myös vastaava vaikutus Corpetin ym. (1995) eläinkokeessa. Ohutsuoliavannepotilailla tehdyn interventiotutkimuksen perusteella naudanlihan ja juuston proteiinien imeytyvyys oli yhtä suurta (Silvester ja Cummings 1995). Samojen tutkijoiden meta-analyysissä, jossa käsiteltiin yhdeksää interventiotutkimusta, löydettiin vahva lineaarinen yhteys syödyn proteiinin määrän ja imeytymättömän, paksusuoleen päätyvän proteiinin määrän välillä. Tämän perusteella vaikuttaa siltä, että merkittävin proteiinien fermentaatiota lisäävä tekijä on syödyn proteiinin määrä, ei niinkään sen laatu.

Muu syöty ruoka vaikuttaa proteiinien imeytymiseen ja fermentaatioon. Eläinkokeissa on osoitettu resistentin tärkkelyksen ja ravintokuidun ehkäisevän proteiinien fermentaatiota paksusuoleessa (Le Leu ym. 2007) sekä punaisen lihan ja kaseiinin fermentaation aiheuttamia DNA-vaurioita paksusuoleessa (Topping ym. 2006). Resistentti tärkkelys tarkoittaa ruoansulatuksessa hajoamatonta ja paksusuoleessa fermentoituvaa tärkkelystä, jota löytyy esimerkiksi viljoista, siemenistä ja palkokasveista (Aro ym. 2014). Ravintokuitua ovat muut ravinnon polysakkaridit ja ligniinit, joita ruoansulatusentsyymit eivät pysty hajottamaan ja jotka päätyvät paksusuoleen.

3 FERMENTAATIOTUOTTEET

3.1 Yleistä fermentaatiotuotteista

Proteiinien fermentaation seurauksena syntyy monipuolisemmin eri fermentaatiotuotteita verrattuna hiilihydraattien fermentaatioon (Scott ym. 2013). Proteiinien fermentaatiotuotteita ovat monet kaasut kuten vety (H_2), metaani (CH_4), hiilidioksidi (CO_2) ja rikkivety (H_2S) sekä lyhytketjuiset- ja haaraketjuiset rasvahapot, ammoniakki, N-nitrosoyhdisteet, amiinit, fenolit ja indolit (Yao ym. 2016). Fermentaatiotuotteet on esitetty Kuvassa 2. Monet *in vitro* -tutkimukset viittaavat joidenkin proteiinien fermentaatiotuotteiden toksisuuteen (Windey ym. 2012a). Ihmisillä ja eläimillä tehtyjä tutkimuksia on kuitenkin paljon vähemmän ja ne eivät ole yhtä yksimielisiä.



Kuva 2. Proteiinien fermentaatiotuotteet (muokattu lähteiden Cummings 1997 ja Aro ym. 2014 pohjalta). Mahdollisesti terveydelle haitalliset tuotteet merkitty punaisella. Fermentaatiotuotteiden erityisreitit alimpana.

Proteiinien aminohappokoostumus vaikuttaa siihen, mitä fermentaatiotuotteita syntyy (Yao ym. 2016). Aminohapot voidaan jakaa kolmeen eri ryhmään niistä saatavien erilaisten fermentaatiotuotteiden perusteella: sulfaattia sisältäviin aminohappoihin, jotka tuottavat rikkiyhdisteitä, aromaattisiin aminohappoihin, jotka fermentoituvat fenolisiksi yhdisteiksi ja aromaattisiin aminohappoihin, jotka fermentoituvat indoleiksi. Eri proteiininlähteet ruokavaliossa sisältävät erilaisia aminohappoja ja eri aminohapot tuottavat osittain erilaisia fermentaatiotuotteita paksusuoleessa.

3.2 Lyhyt- ja haaraketjuset rasvahapot

Lyhytketjuisia rasvahappoja pidetään terveydelle edullisina ja ne ovat hiilihydraattien fermentaation päätuote, mutta niitä muodostuu myös proteiinien fermentaation seurauksena (Windey ym. 2012b). Pääasiallinen aminohappojen fermentaatioreitti paksusuoleessa on

deaminaatio, jonka seurauksena muodostuu lyhytketjuisia rasvahappoja ja ammoniakia (Scott ym. 2013). Tärkeimpiä lyhytketjuisia rasvahappoja ovat asetaatti, propionaatti ja butyraatti. Aminohapot, joista mikrobit muodostavat asetaattia ovat glysiini, alaniini, treoniini, glutamiini, lysiini ja aspartaatti (Davila ym. 2013). Butyraattia muodostuu glutamiinista ja lysiinistä sekä propionaattia alaniinista ja treoniinista. Lyhytketjuiset rasvahapot ovat tärkeä energianlähde ja ne hapetetaan paksusuolen epiteelisolujen energiaksi (Ma ym. 2017). Niillä on myös monia muita tärkeitä tehtäviä elimistössä, kuten immuunipuolustuksen säätely ja paksusuolen pH:n laskeminen.

Haaraketjuisia rasvahappoja muodostuu haaraketjuisten aminohappojen, valiinin, isoleusiinin ja leusiinin, fermentaation seurauksena (Davila ym. 2013). Näistä aminohapoista muodostuvia haaraketjuisia rasvahappoja ovat muun muassa isobutyraatti, isovaleraatti ja 2-metyylibutyraatti. Haaraketjuisten aminohappojen terveysvaikutukset ovat huonosti tunnettuja (Yao ym. 2016). Kuitenkin tiedetään, että haaraketjuisia rasvahappoja ei muodostu hiilihydraattien fermentaatiossa, joten niiden määrä kertoo hyvin proteiinin fermentaation määrästä (Davila ym. 2013).

3.3 Fenolit ja indolit

Bakteerien hajottaessa aromaattisia aminohappoja muodostuu fenolisia yhdisteitä ja indoleita (Windey ym. 2012b). Fenolisia yhdisteitä ovat esimerkiksi fenoli ja p-kresoli. Fenoliset yhdisteet imeytyvät paksusuolesta ja niitä muokataan vähemmän toksisiksi joko paksusuolen limakalvon soluissa tai maksassa, josta ne eritetään lopulta virtsaan. Suurin osa fenolisista yhdisteistä eritetään virtsaan p-kresolina. *In vitro* -malleilla on osoitettu fenolien lisäävän paksusuolen epiteelisolujen läpäisevyyttä ja DNA-vaurioita (Scott ym. 2013). Bakterisuvut, jotka osallistuvat fenolien ja indolien tuotantoon ovat *Clostridium*, *Bacteroides*, *Enterobacterium*, *Bifidobacterium* ja *Lactobacillus*.

3.4 N-nitrosoyhdisteet ja amiinit

Aminohappojen dekarboksylaatio johtaa paksusuolella amiinien muodostukseen (Windey ym. 2012b). Suoliston bakterisuvuista *Clostridium*, *Bifidobacterium* ja *Bacteroides* on yhdistetty amiinien tuotantoon. Amiinien terveysvaikutukset ovat huonosti tunnettuja, mutta ne voivat toimia nitrosoamiinien esiasteena (Scott ym. 2013). Nitrosoamiinia, joka on hyvin tunnettu karsinogeeni, muodostuu sekundaarisista amiineista ja nitriitistä bakteerien entsyymien

katalysoimana. Suoliston bakteerisuvut, jotka on liitetty nitrosoamiinien tuotantoon ovat *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, ja *Klebsiella*. Sukuihin kuuluu useita patogeenisiä bakteerilajeja. Proteiinien fermentaation on osoitettu lisäävän myös ulosteen N-nitrosoyhdisteiden määrää runsasproteiinisen ruokavalion (Russell ym. 2011) sekä paljon lihaa sisältävän ruokavalion (Hughes ym. 2001) noudattamisen seurauksena. N-nitrosoyhdisteiden epäillään olevan yksi selittävä tekijä paksusuolen syövän ja punaisen lihan syönnin välillä (Hughes ym. 2000).

3.5 Rikkivety

Rikkiä sisältävien aminohappojen, kuten metioniinin, kysteiinin ja tauriinin, fermentaation seurauksena syntyy rikkivetyä (H_2S) (Windey ym. 2012b). Rikkivedyn tuotantoon paksusuolella osallistuvat sulfaattia pelkistävät bakteerit kuten *Desulfovibrio*-suvun bakteerit (Scott ym. 2013). Rikkivety on erittäin toksinen yhdiste ja ulosteen rikkivetypitoisuus vastaa hyvin syödyn ruoan proteiinimäärää (Windey ym. 2012b). Sen on osoitettu aiheuttavan DNA-vaurioita epiteelisoluihin *in vitro*- ja eläinkokeissa (Ma ym. 2017). Rikkivedyn merkitys terveydelle ja paksusuolen syövän kehittymiselle on kuitenkin epäselvä.

3.6 Ammoniakki

Paksusuolen bakteerit muodostavat ammoniakkia (NH_3) aminohapoista deaminaation avulla (Windey ym. 2012b). Ammoniakki voi imeytyä elimistöön tai paksusuolen bakteerit voivat käyttää sitä aineenvaihduntaansa. Ammoniakki muutetaan maksassa ureaksi ja eritetään virtsan mukana pois elimistöstä. Sen pitoisuus on ulosteessa 12–30 mM ja sen määrä nousee proteiininsaannin kasvaessa (Scott ym. 2013). *In vitro*- ja eläintutkimuksia ammoniakkin haitallisuudesta paksusuolen epiteelisoluihin on tehty, mutta sen vaikutukset terveyteen ovat osittain epäselvät.

3.7 Fermentaation mittaaminen

Proteiinien fermentaatiota ihmisillä on enimmäkseen tutkittu epäsuorasti ulostenäytteistä, koska paksusuolen limakalvon tutkiminen normaalin ruoansulatuksen aikana on vaikeaa (Geypens ym. 1997). Ulostenäytteiden fermentaatiotuotteiden pitoisuudet kertovat suhteellisen hyvin proteiinien fermentaatiosta. Lisäksi proteiinien fermentaatiota voidaan tutkia esimerkiksi

hengitysilman vedyn, metaanin ja hiilidioksidin sekä virtsan haihtuvien yhdisteiden avulla. Fermentaatiotuotteiden toksisuutta soluille ja DNA:lle sekä karsinogeenisyyttä on tutkittu pääosin *in vitro*- ja eläinkokeilla (Ma ym. 2017). Eläinkokeilla voidaan myös tutkia proteiinin fermentaatiota suoraan paksusuolen sisällöstä ja epiteelisoluista.

Ihmisen omat entsyymit eivät pysty tuottamaan haaraketjuisia rasvahappoja, fenoleita ja indoleita, vaan ne ovat yksinomaan paksusuolen bakteerien tuottamia (Windey ym. 2012b). Tämän takia edellä mainitut yhdisteet kuvaavat hyvin proteiinien fermentaatiota paksusuolella. Proteiinien fermentaation muutoksia voidaan mitata esimerkiksi virtsasta 24 tunnin fenolien määrän muutoksella (Yao ym. 2016). Ammoniakin määrä ulosteessa kertoo myös aminohappojen fermentaation muutoksista.

Fermentaation tutkimusta vaikeuttaa se, että monet fermentaatiossa muodostuvat yhdisteet ovat helposti haihtuvia tai niiden määriä on vaikea arvioida luotettavasti nykyisillä analysointimenetelmillä (Yao ym. 2016). Esimerkiksi osa ulosteen ammoniakista on peräisin urean hydrolyysistä, joten ammoniakin määrä ulosteessa ei täysin vastaa proteiinien fermentaation määrää. Myös rikkivedyn määrään ulosteessa vaikuttavat monet muut tekijät fermentaation lisäksi, kuten yhdisteen hapettuminen tai imeytyminen paksusuolesta elimistöön. Koska yhdisteen mittaamenetelmät ovat puutteelliset, on tutkimuksiin, joissa käsitellään muun muassa rikkivedyn yhteyttä paksusuolen syöpään suhtauduttava varoen.

4 PROTEIINIEN FERMENTAATION VAIKUTUKSET PAKSUSUOLEN MIKROBIOMIIN

4.1 Yleistä paksusuolen mikrobiomista

Ihmisen paksusuolen mikrobisto on monimutkainen ja se koostuu sadoista bakteerilajeista (Scott ym. 2013). Bakteereita on noin 10^{11} solua yhdessä millilitrassa paksusuolen sisältöä. Suoliston mikrobistolla on suuri merkitys ihmisen terveydelle (Ma ym. 2017). Mikrobeja tarvitaan muun muassa suoliston homeostaasin, eli tasapainon ylläpitämiseen, ravintoaineiden imeytymisen tehostamiseen ja välttämättömien aminohappojen sekä vitamiinien tuotantoon.

Paksusuolen bakteerit jaetaan yleensä kuuteen pääjaksoon, jotka ovat *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* ja *Fusobacteria* (Ma ym. 2017). Näistä *Firmicutes* ja *Bacteroidetes* muodostavat 90 % paksusuolen mikrobien

ekosysteemistä. Suolistomikrobit voidaan jakaa myös symbioottisiin ja patogeenisiin mikro-organismeihin. Symbioottiset mikrobit ovat hyödyllisiä muun muassa isännän immuunipuolustukselle ja ne ovat pääasiassa anaerobeja. Ehdollisesti patogeeniset mikrobit voivat muuttua isännälle haitallisiksi, jos suoliston tasapaino järkkyy. Ne ovat ehdollisesti anaerobeja, eli ne voivat kasvaa sekä hapellisissa, että hapettomissa olosuhteissa, ja niitä on vain noin 10 % suoliston mikrobeista. Symbioottiset bakteerit vastustavat patogeenien kasvua kolonisaatioresistenssin avulla (Rolhion ja Chassaing 2016). Tämä tarkoittaa symbioottisten bakteerien asettumista paksusuolen pinnan mikrobiflooraan, mikä estää patogeenisten bakteerien kasvua.

Suoliston mikrobikoostumusten välillä on yksilöllisiä eroja (Arumugam ym. 2011). Suolistomikrobistot voidaan luokitella uuden määritelmän mukaan kolmeen eri luokkaan, enterotyyppeihin, perustuen vallitseviin bakteerisukuihin. Näitä enterotyyppejä ovat *Bacteroides*-, *Prevotella*- ja *Ruminococcus*. Enterotyypit eivät määräydy kansallisuuden, sukupuolen, iän tai painoindeksin perusteella, vaan esimerkiksi ruokavaliolla voidaan vaikuttaa niihin. Enterotyypiluokitus on kuitenkin herättänyt paljon keskustelua ja niitä on kritisoitu muun muassa liiallisesta yksinkertaistamisesta (Aguirre ym. 2016).

Paksusuolen mikrobiomiin vaikuttavat ruokavalion lisäksi monet tekijät, kuten syntymässä saadut mikrobit, geneettiset ja immunologiset tekijät sekä antibioottien käyttö (Scott ym. 2013). Muuttamalla syödyn ruoan proteiinien, hiilihydraattien ja rasvojen määriä voidaan vaikuttaa mikrobiomin koostumukseen. Ruokavalio voi myös muuttaa ruoan läpikulkuaikaa ja pH:ta paksusuolella, mikä osaltaan vaikuttaa paksusuolen mikrobistoon. Paksusuolen mikrobit voivat hajottaa sulamattomia ruoan osia, joiden hajottamiseen tarvittavat entsyymit puuttuvat kokonaan ihmisen ylemmästä ruoansulatuskanavasta.

4.2 *In vitro* -tutkimukset

In vitro -tutkimukset, joissa on käsitelty proteiinien fermentaation vaikutuksia mikrobiomiin, on esitetty Taulukossa 1. Macfarlanen ym. (1986) tutkimuksessa tutkittiin ulostenäytteistä proteolyttista aktiivisuutta, proteiinien fermentaatiotuotteita ja siihen osallistuvia bakteereita. Ihmisen ulostenäytteitä fermentoitiin kaseiinin ja albumiinin kanssa. Suurimmat proteiineja fermentoivat bakteerisuvut olivat *Bacteroides* ja *Propionibacterium*. Muut proteolyttiset ulosteesta löydetty bakteerit kuuluivat sukuihin *Clostridium*, *Streptococcus*, *Bacillus* ja *Staphylococcus*.

Eri aminohappoja fermentoivat osittain eri mikrobit (Smith ja Macfarlane 1998). *In vitro* -tutkimuksessa 5 terveen vapaaehtoisen ihmisen ulostenäytteitä fermentoitiin eri aminohappojen kanssa ja fermentaatioon osallistuvat mikrobit määritettiin. Eri aminohappojen fermentoinnissa *Clostridium*- ja *Peptostreptococcus*-sukujen bakteerit olivat yleisimpiä. Muita yleisesti aminohappoja fermentoivia bakteerisukuja olivat *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Actinomyces*, *Propionibacterium* ja monet gram-positiivisia kokit. Aminohapoista esimerkiksi lysiinin, alaniinin, glysiinin, proliinin ja fenyylialaniinin fermentoinnissa vallitsevat bakteerit kuuluivat *Clostridium*-sukuun. Glutamaattia ja tryptofaania fermentoivat bakteerit kuuluivat *Peptostreptococcus*-sukuun.

Richardsonin ym. (2013) *in vitro* -tutkimuksessa fermentoitiin ulostenäytteitä proteiinien kanssa. Tutkimuksessa kolmen kasvissyöjän ja kolmen sekasyöjän ulostenäytteistä tutkittiin proteiinien hajotusta, siihen osallistuvia bakteereita ja fermentaatiotuotteiden määriä. Ulostenäytteitä fermentoitiin kaseiinin, lyhytketjuisten peptidien ja aminohappojen kanssa. Mikrobisuvut, jotka lisääntyivät proteiini- tai aminohappolisän myötä, olivat *Clostridium*, *Enterococcus*, *Shigella* ja *Escherichia*. Tulokset kasvis- ja sekasyöjien välillä olivat samankaltaisia.

Bakteerien fermentaatiota on tutkittu myös paksusuolen olosuhteita jäljittelevän suolistomallin avulla (Aguirre ym. 2016). Tutkimuksessa vapaaehtoisten terveiden aikuisten ulostenäytteiden mikrobeja kasvatettiin suolistomallissa, johon syötettiin ruoansulatuskanavassa sulamattomia osia ja ravintoaineita sisältävää kasvatusliuosta. Kasvatusliuokset jäljittelivät joko normaalia ruokavaliota, runsashiilihydraattista ruokavaliota tai runsasproteiinista ruokavaliota. Näytteitä fermentoitiin yhteensä 72 tuntia. Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää miten ja kuinka nopeasti bakteerien koostumus ja aktiivisuus muuttuvat eri sulamattomia ravintoaineiden fermentaatioissa. Runsasproteiinisen ruokavalion osalta hiilihydraatteja fermentoivien *Firmicutes*-, *Actinobacteria*-, *Fusobacteria*- ja *Verrucomicrobia*-pääjaksojen bakteerien määrät olivat pienempiä verrattuna muihin koeruokavalioihin. Runsasproteiininen ruokavalio lisäsi *Bacteroides*-suvun lajeja muita ruokavalioita enemmän jo 24 tunnin fermentoinnin jälkeen. Suurimmat muutokset mikrobikoostumuksessa tapahtuivat 24 tunnin jälkeen, joten tutkimuksen mukaan ruokavalio vaikuttaa paksusuolen mikrobistoon jo lyhyellä aikavälillä.

Lihan laatu ja valmistustapa vaikuttivat myös paksusuolen mikrobien fermentaatioprofiiliin Shenin ym. (2010) *in vitro* -tutkimuksessa. Naudan, kanan ja lohen lihaa kypsennettiin

keittämällä tai paistamalla ja ne kulkivat simuloitun ruoansulatuksen läpi. Tämän jälkeen näytteitä fermentoitiin ihmisen ulostenäytteiden kanssa 48 tuntia. Naudan lihan fermentointi lisäsi *Clostridium perfringensin* ja vähensi *Bifidobacterium*-suvun bakteerien määriä. Erityisesti *C. perfringensin* ja *C. histolyticumin* määrät kasvoivat merkittävästi enemmän naudanlihan fermentoinnissa verrattuna muihin lihoihin. *Clostridium*-suvun bakteerit kasvoivat voimakkaammin paistetun kuin keitetyn lihan fermentaatiossa riippumatta lihan laadusta. Keitetyn naudanlihan fermentaatio nosti myös merkittävästi *Coriobacterium*- ja *Atopobium*-sukujen bakteerien määriä. Kananlihan fermentaatio lisäsi *Bifidobakteereita* verrattuna naudanlihan fermentaatioon. Kanan fermentaatio lisäsi *Bakteroides*-suvun bakteereita verrattuna kalan fermentaatioon.

Taulukko 1. Proteiinien fermentaation mikrobivaikutusten *in vitro* -tutkimukset.

Viite	Materiaalit	Menetelmät	Tulokset
Aguirre ym. (2016)	10 terveen vapaaehtoisen 31–56 v ulostenäytteet	Ulostenäytteiden mikrobeja kasvatettiin paksusuolta jäljittelevässä suolistomallissa, johon syötettiin joko normaalia ruokavaliota, runsaasti hiilihydraattia ja vähän proteiinia sisältävää ruokavaliota tai runsaasti proteiinia ja vähän hiilihydraattia sisältävää ruokavaliota jäljittelevää kasvatusliuosta. Näytteitä fermentoitiin yhteensä 72 tuntia, jonka jälkeen mikrobimäärät mitattiin.	Runsasproteiininen ruokavaliio verrattuna vähäproteiiniseen: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Firmicutes</i>-pääjakso ↓ - <i>Actinobacteria</i>-pääjakso ↓ - <i>Fusobacteria</i>-pääjakso ↓ - <i>Verrucomicrobia</i>-pääjakso ↓ - <i>Bacteroides</i>-suku ↑
Macfarlane ym. (1986)	10 terveen vapaaehtoisen ulostenäytteet	Kaseiinia ja naudan seerumin albumiinia fermentoitiin ihmisen ulostenäytteiden kanssa ja tutkittiin proteolyttista aktiivisuutta, proteiinien fermentaatiotuotteita ja siihen osallistuvia bakteereita.	Proteolyttiset bakteerisuvut: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacteroides</i> ↑ - <i>Propionibacterium</i> ↑ - <i>Clostridium</i> ↑ - <i>Streptococcus</i> ↑ - <i>Bacillus</i> ↑ - <i>Staphylococcus</i> ↑
Richardson ym. (2013)	3 kasvissyöjän ja 3 sekasyöjän ulostenäytteet	Ulostenäytteitä fermentoitiin kaseiinin, lyhytketjuisten peptidien tai aminohappojen kanssa ja tutkittiin niiden hajotusta, fermentaatioon osallistuvia bakteereita ja fermentaatiotuotteiden määriä.	Kaikista ulosteen elävistä bakteereista 3,5 % pystyi kasvamaan ainoastaan peptideillä tai aminohapoilla. Fermentoivat bakteerit: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Clostridium</i>-suku ↑ (esimerkiksi <i>C. perfringens</i>) - <i>Enterococcus</i>-suku ↑ - <i>Shigella</i>-suku ↑ - <i>Escherichia coli</i> ↑
Shen ym. (2010)	2 g jokaista lihanäytettä ja 200 ml kasvatusliuosta, jossa 1 % ihmisen ulostenäytteitä	Naudan, kanan ja lohen lihaa kypsennettiin keittämällä tai paistamalla ja niistä saatuja näytteitä fermentoitiin <i>in vitro</i> ihmisen ulostenäytteessä. 48 tunnin fermentoinnin jälkeen seurattiin eri mikrobien ja niiden fermentaatiotuotteiden määriä	Riippumatta valmistustavasta: <ul style="list-style-type: none"> - <i>C. perfringens</i> ↑ - <i>C. histolyticum</i> ↑ Paistettu liha verrattuna keitettyyn: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Clostridium</i>-suku ↑ Naudanliha verrattuna muihin lihoihin: <ul style="list-style-type: none"> - <i>C. perfringens</i> ↑ Naudanliha verrattuna kananlihaan: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Bifidobacterium</i>-suku ↓ Kananliha verrattuna kalaan: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacteroides</i>-suku ↑

(jatkuu)

Viite	Materiaalit	Menetelmät	Tulokset
Smith ja Macfarlane (1998)	5 terveen vapaaehtoisen ulostenäytteet	Ulostenäytteitä fermentoitiin eri aminohappojen kanssa ja niitä fermentoivat bakteerit määritettiin.	Eri aminohappoja fermentoivat osittain eri mikrobit. Eri aminohappojen fermentoinnissa <i>Clostridium</i> - ja <i>Peptostreptococci</i> -suvut olivat yleisimpiä. Muita yleisesti aminohappoja fermentoivia bakteerisukuja olivat <i>Fusobacterium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Propionibacterium</i> ja monet gram-positiiviset kokit. Aminohapoista esimerkiksi lysiinin, alaniinin, glysiinin, proliinin ja fenyylialaniinin fermentoinnissa vallitsevat bakteerit kuuluivat <i>Clostridium</i> -sukuun. Glutamaattia ja tryptofaania fermentoivat bakteerit kuuluivat <i>Peptostreptococcus</i> -sukuun.

↑ = mikrobin määrä lisääntyy/ on suurempi, ↓ mikrobin määrä vähenee/ on pienempi

4.3 Eläintutkimukset

Eläintutkimukset, jotka käsittelevät proteiinien fermentaation vaikutuksista paksusuolen mikrobiomiin on esitetty Taulukossa 2. Mun ym. (2017) tutkimuksessa tarkasteltiin runsasproteiinisen ruokavalion lyhytaikaisia vaikutuksia rottien paksusuolen mikrobiomiin. 20 rotalle syötettiin kuuden viikon ajan joko normaaliproteiinista tai runsasproteiinista ruokavaliota. Tutkimuksen aikana rottien ulostenäytteistä tutkittiin mikrobikoostumusta eri aikapisteissä ja kuuden viikon jälkeen tutkittiin mikrobit proksimaalisen paksusuolen sisällöstä. Muutoksi ulosteen mikrobikoostumuksessa huomattiin 4 viikon jälkeen. Erityisesti *Akkermansia*-suvun bakteerit vähenivät runsasproteiinisella ruokavaliolla. Runsasproteiininen ruokavalio vähensi myös *Bifidobacteriumin*, *Prevotellan*, *Ruminococcus bromini*, *Roseburian* ja *Eubacterium rectalen* kasvua verrattuna normaaliproteiiniseen ruokavalioon ja lisäsi *Escherichia colin* kasvua.

Mun ym. (2016) samankaltaisessa tutkimuksessa 20 rotalle syötettiin 6 viikon ajan joko normaaliproteiinista tai runsasproteiinista ruokavaliota, jonka jälkeen muun muassa mikrobikoostumus tutkittiin proksimaalisesta paksusuolen sisällöstä. Runsasproteiininen ruokavalio lisäsi *Escherichia*-, *Shigella*-, *Enterococcus*- ja *Streptococcus*-sukujen sekä sulfaattia pelkistävien bakteerien määriä verrattuna normaaliproteiiniseen ruokavalioon. Runsasproteiininen ruokavalio vähensi *Ruminococcus*-suvun ja *Faecalibacterium prausnitzii* määriä. *Akkermansia*-suvun bakteereita ei havaittu ollenkaan runsasproteiinisella ruokavaliolla, toisin kuin normaaliproteiinillä ruokavaliolla.

Liun ym. (2014) tutkimuksessa tarkasteltiin runsasproteiinisen ja vähäproteiinisen ruokavalion vaikutuksia rottien paksusuolen mikrobiomiin. Rotille syötettiin 15 päivän ajan toista ruokavaliosta, jonka jälkeen umpisuolen ja paksusuolen sisällöistä määritettiin muun muassa mikrobikoostumus. Normaaliproteiininen ruokavalio johti monipuolisempaan paksusuolen mikrobistoon verrattuna runsasproteiiniseen ruokavalioon. Runsasproteiinisen ruokavalion seurauksena *Clostridium coccoides*, *C. leptum* ja *Faecalibacterium prausnitzii* määrät laskivat verrattuna normaaliproteiiniseen ruokavalioon.

Zhun ym. (2016) eläintutkimuksessa tutkittiin eri lihoista eristettyjen proteiinien vaikutusta rottien paksusuolen mikrobiomiin. Rotille syötettiin 14 päivän ajan viittä eri ruokavaliota, jotka sisälsivät sianlihaproteiinia, naudanlihaproteiinia, kalaproteiinia, soijan proteiinia tai kaseiinia. Kokonaisproteiinien, -hiilihydraattien ja -rasvojen määrät olivat eri ruokavalioidella samat.

Tämän jälkeen tutkittiin muun muassa rottien ulosteen mikrobikoostumukset. Eri ruokavaliota syöneiden rottien ulosteiden mikrobikoostumukset erosivat merkitsevästi toisistaan. Lihan proteiineja syöneillä oli ulostenäytteissä enemmän *Lactobacillus*- sekä vähemmän *Fusobacterium*- ja *Bacteroides*-sukujen bakteereita verrattuna soijaa syöneisiin rottiin. Naudan- ja sianlihaproteiinia syöneillä *Allobaculum*-suvun bakteerien määrät nousivat ja *Lachnospiraceae*- ja *Lachnospiraceae*-sukujen bakteerien määrät vähenivät. Soijan-, naudan ja kalan proteiinia syöneillä *Blautia*-suvun bakteerien määrät lisääntyivät verrattuna kaseiiniä syöneisiin.

Opapejun ym. (2009) tutkimuksessa tarkasteltiin eri proteiinipitoisuuksien vaikutusta porsaiden terveyteen ja suolistomikrobeihin. Tutkimus tehtiin 40 porsaalle, se kesti 14 päivää ja 8 päivän kohdalla porsaat altistettiin suolistolle toksiselle *Escherichia colille*. Paksusuolen sisällöstä tutkittiin mm. mikrobikoostumusta. Runsasproteiininen ruokavalio vähensi *Roseburia*-suvun bakteerien määrää ja vähensi kokonaisbakteerien määrää ja monipuolisuutta verrattuna normaaliproteiiniseen ruokavalioon.

Taulukko 2. Proteiinien fermentaation mikrobivaikutusten eläintutkimukset

Viite	N	Menetelmät	Tulokset
Liu ym. (2014)	16 rottaa	15 päivän ajan joko normaaliproteiinista (14 % proteiinia) tai runsasproteiinista (53 % proteiinia) ruokavaliota, jonka jälkeen umpisuolen ja paksusuolen sisällöistä määritettiin mm. mikrobikoostumus	Normaaliproteiininen ruokavalio johti monipuolisempaan paksusuolen mikrobistoon verrattuna runsasproteiiniseen ruokavalioon. Runsasproteiininen ruokavalio verrattuna normaaliproteiiniseen: - <i>Clostridium coccoides</i> ja <i>C. leptum</i> ↓ - <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ↓
Mu ym. (2016)	20 rottaa	6 viikon ajan joko normaaliproteiinista (20 % proteiinia) tai runsasproteiinista (45 % proteiinia) ruokavaliota, jonka jälkeen mm. mikrobikoostumus tutkittiin proksimaalisesta paksusuolen sisällöstä.	Runsasproteiininen ruokavalio verrattuna normaaliproteiiniseen: - <i>Escherichia</i> -suku ↑ - <i>Shigella</i> -suku ↑ - <i>Enterococcus</i> -suku ↑ - <i>Streptococcus</i> -suku ↑ - sulfaattia pelkistävät bakteerit ↑ - <i>Ruminococcus</i> -suku ↓ - <i>Akkermansia</i> -suku (ei havaittu ollenkaan runsasproteiinisella ruokavaliolla) ↓ - <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> ↓
Mu ym. (2017)	20 rottaa	6 viikon ajan joko normaaliproteiinista (20 % proteiinia) ruokavaliota tai runsasproteiinista (45 % proteiinia) ruokavaliota. Ulostenäytteistä ja proksimaalisesta paksusuolen sisällöstä tutkittiin mikrobikoostumukset.	Muutoksia ulosteen mikrobikoostumuksessa huomattiin 4 viikon jälkeen. Runsasproteiininen ruokavalio verrattuna normaaliproteiiniseen: - <i>Escherichia coli</i> ↑ - <i>Akkermansia muciniphila</i> , ↓ - <i>Bifidobacterium</i> -suku ↓ - <i>Prevotella</i> -suku ↓ - <i>Ruminococcus bromii</i> ↓ - <i>Roseburia</i> -suku ↓ - <i>Eubacterium rectale</i> ↓

(jatkuu)

Viite	N	Menetelmät	Tulokset
Opapeju ym. (2009)	40 porsasta	Tutkittiin ruoan proteiininmäärän vaikutusta suolistolle toksiselle <i>Escherichia colille</i> (ETEC) altistettujen porsaiden paksusuolen mikrobiomiin ja terveyteen. Porsaille syötettiin 14 päivän ajan joko runsasproteiinista (22,5 % proteiinia) tai normaaliproteiinista (17,6 % proteiinia) ruokaa ja 8 päivän jälkeen porsaat altistettiin ETEC:lle. Paksusuolen sisällöstä tutkittiin mm. mikrobikoostumusta.	Runsasproteiininen ruokavalio 14 päivän jälkeen verrattuna normaaliproteiiniseen: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Roseburia</i>-suku ↓ - kokonaisbakteerien määrä ja monipuolisuus ↓
Zhu ym. (2016)	55 rottaa	Tutkittiin eri lihojen proteiinien vaikutusta mikrobiomiin. 14 päivän ajan 5 eri ruokavaliota, joissa kaikissa 20 % proteiinia: sianlihaproteiinilla, naudanlihaproteiinilla, kalaproteiinilla, soijan proteiinilla tai kaseiinilla täydennetty ruoka. Tämän jälkeen tutkittiin mm. rottien ulosteen mikrobikoostumus.	Naudan- ja sianlihaproteiinia syöneet verrattuna kaseiinia syöneisiin: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Allobaculum</i>-suku ↑ - <i>Lachnospiraceae</i> ja <i>Lachnospiraceae</i> ↓ Soijan-, naudan ja kalan proteiinia syöneet verrattuna kaseiinia syöneisiin: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Blautia</i>-suku ↑ Kaseiinia ja soijaproteiinia syöneet verrattuna muihin: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Bacteroides</i>-suku ↑ - <i>Lactobacillus</i>-suku ↓ Lihaproteiinia syöneet (sikaa, nautaa tai kalaa) verrattuna muihin: <ul style="list-style-type: none"> - <i>Lactobacillus</i>-suku ↑ - <i>Bacteroides</i>-suku ↓ - <i>Fusobacterium</i>-suku ↓ - <i>Prevotella</i>-suku ↓

↑ = mikrobin määrä lisääntyy/ on suurempi, ↓ mikrobin määrä vähenee/ on pienempi

4.4 Ihmistutkimukset

Ihmistutkimuksissa on ruokavalion todettu merkittävästi muuttavan paksusuolen mikrobiomia niin lyhyellä (David ym. 2014) kuin pitkällä (Wu ym. 2011) aikavälillä. Ihmistutkimukset, jotka käsittelevät proteiinien fermentaation vaikutuksista paksusuolen mikrobiomiin on kuvattu Taulukossa 3. Eläinperäinen ruokavalio, joka sisälsi runsaasti proteiinia, rasvaa, lihaa, kananmunia ja juustoa lisäsi sappea kestäviä *Alistipes*-, *Bilophila*-, ja *Bacteroides*-sukujen bakteereita paksusuolella jo neljän päivän ruokavaliointervention jälkeen (David ym. 2014). Eläinperäinen ruokavalio lisäsi erityisesti *Bilophila wadsworthian* kasvua. Wun ym. (2011) poikkileikkaustutkimuksessa huomattiin, että runsas eläinproteiinin, erilaisten aminohappojen ja tyydyttyneen rasvan saanti oli yhteydessä *Bacteroides*-enterotyypin suureen määrään ulosteessa. Runsaas hiilihydraattien syönti oli yhteydessä *Prevotella*-enterotyypin suureen määrään.

Pilottitutkimuksessa tarkasteltiin proteiiniravintolisien vaikutuksia urheilijoiden paksusuolen mikrobiomiin (Moreno-Pérez ym. 2018). Satunnaistetussa, kontrolloidussa, kaksoissokkoutetussa tutkimuksessa urheilijat söivät proteiinilisää 10 viikon ajan. Proteiinilisiä sisälsi heraa ja hydrolysoitua naudanlihaproteiinia. Kontrolliryhmä söi maltodekstriiniä, joka on nopeasti imeytyvää tärkkelystä. Ulostenäytteistä tutkittiin muun muassa mikrobien ja proteiinien fermentaatiotuotteiden määriä. Proteiinilisiä johti *Bacteroidetes*-pääjakson mikrobien lisääntymiseen ja hiilihydraatteja fermentoivien, terveydelle edullisten bakteerien, *Roseburia*- sekä *Blautia*-sukujen ja *Bifidobacterium longum*, määrien laskuun.

Proteiinien fermentaation on osoitettu vähentävän kasvien hiilihydraatteja fermentoivien bakteerien määrää useissa interventiotutkimuksissa (Duncan ym. 2007, Russell ym. 2011, David ym. 2014). Runsaasproteiininen ruokavalio vähensi *Roseburia*-suvun ja *Eubacterium rectale*-bakteerien kasvua. Lisäksi hiilihydraattien fermentaatioon liitetyn *Bifidobacterium*-suvun bakteerien määrä eläinperäisellä ruokavaliolla (Duncan ym. 2007) ja *Ruminococcus bromii* (David ym. 2014) määrä runsaasproteiinisella ruokavaliolla vähenivät. Duncanin ym. (2007) kuuden viikon interventiossa, jossa verrattiin runsaasti proteiinia sisältävää ruokavaliota normaaliproteiiniseen ruokavaliioon, ei kuitenkaan huomattu eroa *Clostridium*- ja *Bacteroides*-sukujen sekä sulfaattia tuottavissa bakteereissa eri ruokavalioiden välillä. Russellin ym. (2011) interventiotutkimuksessa *Bacteroides*-suvun bakteerien määrä oli jopa pienempi runsaasproteiinisella ja vähähiilihydraattisella ruokavaliolla verrattuna normaaliproteiiniseen ruokavaliioon.

Kaikissa tutkimuksissa ei ole havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja mikrobikoostumuksissa ei ruokavalioiden välillä (Windey ym. 2012a, Beaumont ym. 2017). Vaihtovuoroisessa interventiotutkimuksessa 20 tervettä vapaaehtoista aikuista söi joko runsasproteiinista tai vähäproteiinista ruokavaliota kahden viikon ajan, jonka jälkeen syötiin kahden viikon ajan toista koeruokavaliota (Windey ym. 2012a). Proteiinien fermentaatiota arvioitiin virtsa- ja ulostenäytteiden fermentaatiotuotteiden avulla ja tutkittiin muun muassa ulosteen mikrobikoostumusta eri ruokavaliolla. Tuloksissa ei havaittu eroja ulosteen mikrobikoostumuksissa eri ruokavalioiden välillä, vaikka proteiinien fermentaatio lisääntyi runsasproteiinisella ruokavaliolla.

Beaumontin ym. (2017) interventiotutkimuksessa 38 ylipainoista aikuista söi kolmen viikon ajan kaseiinilla tai soijaproteiinilla täydennettyä ruokaa. Kontrolliryhmä söi maltodekstriiniä. Ulostesta ja peräsuolen solunäytteistä tutkittiin mikrobikoostumus ja ulosteesta, virtsasta sekä verestä aineenvaihdunnan tuotteita. Merkitseviä eroja mikrobiryhmissä ei ollut eri ruokavalioiden välillä, minkä tutkijat epäilevät johtuneen suolistomikrobien suuresta yksilöllisestä vaihtelusta. Runsaaproteiinisilla ruokavaliolla proteiinien fermentaatiotuotteiden määrät kuitenkin nousivat.

Taulukko 3. Proteiinien fermentaation mikrobivaikutusten ihmistutkimukset.

Viite	Tutkittavat	Menetelmät	Tulokset
Beaumont ym. (2017)	n=38 Ylipainoiset, terveet 18–45-vuotiaat	Satunnaistettu, kaksoissokkoutettu interventiotutkimus, jossa tutkittavat söivät 3 viikon ajan kaseiinilla tai soijaproteiinilla täydennettyä ruokaa. Kontrolliryhmä söi maltodekstriiniä. Proteiini- tai maltodekstriinilisä täytti 15 % tutkittavien energiansaannista. Ulostesta ja peräsuolen biopsioista tutkittiin mm. mikrobikoostumusta.	Merkitseviä eroja mikrobiryhmissä ei ollut eri ruokavalioiden välillä.
David ym. (2014)	n=11 Terveet 21–33-vuotiaat aikuiset	Interventiotutkimus, jossa eri proteiininlähteiden vaikutusta paksusuolen fermentaatioon. Tutkittavien tavanomaista ruokavaliota seurattiin 5 pv, jonka jälkeen 4 viikon interventio: eläinperäinen tai kasvipohjainen ruokavalio. Mikrobit tutkittiin ulostenäytteistä.	Eläinperäinen ruokavalio verrattuna kasvipäraseen: - <i>Alistipes</i> ↑ - <i>Bilophila</i> ↑ - <i>Bacteroides</i> ↑ - <i>Roseburia</i> ↓ - <i>Eubacterium rectale</i> ↓ - <i>Ruminococcus bromii</i> ↓ - <i>Bilophila wadsworthian</i> ↑
Duncan ym. (2007)	n=19 Terveet, 20–57-vuotiaat ylipainoiset miehet	Vaihtovuoroinen, satunnaistettu 9 viikon interventio, jossa tutkittavat söivät vaihtovuoroisesti paljon proteiinia ja keskimääräisesti hiilihydraattia (30 % proteiinia ja 35 % hiilihydraattia) tai paljon proteiinia ja vähän hiilihydraattia sisältävää ruokavaliota (30 % proteiinia ja 4 % hiilihydraattia). Ulostenäytteistä tutkittiin mm. mikrobikoostumus.	<i>Bacteroidesin</i> ja <i>Clostridiumin</i> määrissä eri ruokavalioiden välillä ei ollut erot. Vähähiilihydraattinen ruokavalio verrattuna muihin ruokavaliioihin: - <i>Roseburia</i> spp. ↓ - <i>Eubacterium rectale</i> ↓ - <i>Bifidobacterium</i> ↓
Duncan ym. (2008)	n=47 33 ylipainoista ja 14 normaalipainoista miestä	Ylipainoisten ja normaalipainoisten ulosteiden bakteerikoostumusta vertailtiin keskenään. Lisäksi 23 ylipainoista söi 4 viikon ajan vaihtovuoroisesti joko runsasproteiinista ja vähähiilihydraattista tai runsasproteiinista ja keskimääräisesti hiilihydraatteja sisältävää, painonpudotukseen tähtäävää ruokaa, jonka jälkeen intervention saaneiden ulostenäytteiden mikrobikoostumusta verrattiin normaalipainoisten ulostenäytteiden mikrobikoostumukseen.	Eroja ei löytynyt ylipainoisten ja normaalipainoisten <i>Bacteroidesin</i> määrissä. Eroja <i>Bacteroidesin</i> määrässä ei myöskään ollut eri interventioruokavaliota noudattavien välillä. Runasproteiininen ja vähähiilihydraattinen ruokavalio verrattuna muihin ruokavaliioihin: - <i>Roseburia</i> ↓ - <i>Eubacterium rectale</i> ↓

(jatkuu)

Viite	Tutkittavat	Menetelmät	Tulokset
Moreno-Pérez ym. (2018)	n=24 18-45-vuotiaita säännöllisesti harjoittelevia maastajuoksijoita	Satunnaistettu, kontrolloitu, kaksoissokkoutettu pilottitutkimus, jossa urheilijat söivät proteiinilisää 10 viikon ajan. Proteiinilisiä sisälsi heraa ja hydrolysoitua naudanlihaproteiinia yhteensä noin 20 g ja sitä syötiin kerran päivässä. Kontrolliryhmä söi maltodekstriiniä, joka ei sisältänyt yhtään proteiinia. Ulostenäytteistä tutkittiin mm. mikrobien määriä.	Proteiinilisiä syöneet verrattuna kontrolliruokavalioon: - <i>Bacteroidetes</i> -pääjakso ↑ - <i>Bacteroides</i> ↑ - <i>Roseburia</i> ↓ - <i>Blautia</i> ↓ - <i>Bifidobacterium longum</i> ↓
Russell ym. (2011)	n=17 Ylipainoiset, mutta muuten terveet miehet	Vaihtovuoroinen satunnaistettu 4 viikon interventio, jossa tutkittavat saivat joko kontrolliruokavaliota (85 g proteiinia ja 360 g hiilihydraattia päivässä), paljon proteiinia ja vähän hiilihydraatteja sisältävää (137 g proteiinia ja 22 g hiilihydraattia päivässä) tai paljon proteiinia ja kohtuullisesti hiilihydraatteja sisältävää (139 g proteiinia ja 181 g hiilihydraattia päivässä), laihdutukseen tähtäävää ruokavaliota. Ulostenäytteistä tutkittiin mm. mikrobikoostumukset.	Kontrolliruokavaliota syöneiden ulosteen bakteerien kokonaismäärä oli suurempi verrattuna runsasproteiinisiin ruokavaliioihin. Proteiinipitoiset ruokavaliot: - <i>Roseburia</i> ↓ - <i>Eubacterium rectale</i> ↓ Runsasproteiininen, vähähiilihydraattinen ruokavalio verrattuna kontrolliin: - <i>Bacteroides</i> ↓
Windey ym. (2012a)	n=20 Tervettä 19–41-vuotiaita aikuista	Vaihtovuoroinen interventiotutkimus. 2 viikon normaaliproteiininen ruokavalio, jonka jälkeen 2 viikkoa joko runsasproteiinista ruokavaliota (> 25 % energiansaannista proteiinista) tai vähäproteiinista ruokavaliota (9 % energiansaannista proteiinista), jonka jälkeen 2 viikkoa toista koeruokavaliosta. Muun muassa ulosteen mikrobikoostumus määritettiin.	Ulosteen bakteerit eivät eronneet eri ruokavalioiden välillä.
Wu ym. (2011)	n=98 Terveitä aikuisia	Poikkileikkaustutkimus, jossa täytettiin kyselylomake pitkäaikaisesta ruoankäytöstä ja ulostenäytteiden mikrobikoostumus tutkittiin.	Proteiinin ja rasvan runsas saanti: - <i>Bacteroides</i> -enterotyyppejä ↑ Hiilihydraattien runsas saanti: - <i>Prevotella</i> -enterotyyppejä ↑

↑ = mikrobin määrä lisääntyy/ on suurempi, ↓ mikrobin määrä vähenee/ on pienempi

5 POHDINTA

Tämän kirjallisuuskatsauksen perusteella proteiinien fermentaatiolla on monia vaikutuksia paksusuolen mikrobiomiin. Runsasproteiininen ruokavalio muuttaa paksusuolen mikrobikoostumusta verrattuna normaaliproteiiniseen eläin- ja ihmistutkimuksissa (Taulukot 2 ja 3). Runsasproteiininen ruokavalio saattaa vähentää mikrobien kokonaismäärää ja monipuolisuutta verrattuna normaaliproteiiniseen ruokavalioon (Opapeju ym. 2009, Russell ym. 2011, Liu ym. 2014).

Ihmis- ja eläintutkimuksissa todettiin proteiinien fermentaation vähentävän hiilihydraattien fermentaatioon liitettyjen bakteerien määriä (Taulukot 2 ja 3). Näitä bakteereita olivat erityisesti *Roseburia*-suvun bakteerit, *Eubacterium rectale* ja *Ruminococcus bromii*. Joissakin tutkimuksissa terveydelle edullisen *Bifidobacterium*-suvun bakteerien määrät laskivat proteiinilisan tai runsasproteiinisen ruokavalion seurauksena verrattuna kontrolliruokavalioon (Duncan ym. 2007, Mu ym. 2016, Moreno-Pérez ym. 2018). Eläintutkimuksissa terveydelle edullisiksi miellettyjen *Faecalibacterium prausnitzii* ja *Akkermansian* määrät myös laskivat proteiinien fermentaation myötä (Taulukko 2). Hiilihydraattien fermentaatioon liitettyjen mikrobien väheneminen on yhteydessä lyhytketjuisten rasvahappojen tuotannon vähenemiseen paksusuolella (Ma ym. 2017). Lyhytketjuisilla rasvahapoilla on monia myönteisiä vaikutuksia paksusuolen terveyteen (Scott ym. 2013). Ne osallistuvat muun muassa immuunipuolustuksen säätely ja paksusuolen pH:n laskemiseen (Ma ym. 2017). Proteiinien fermentaation seurauksena hiilihydraattien fermentaatioon liitettyjen bakteerien vähenemisellä voi siis olla haitallisia vaikutuksia paksusuolen terveyteen (Scott ym. 2013).

Proteiinien fermentaatio lisää myös mahdollisesti *Bacteroides*-suvun bakteereita paksusuolella. Tämän kirjallisuuskatsauksen ihmistutkimuksista kolmessa todettiin runsasproteiinisen ruoan lisäävän bakteerien määrää paksusuolella, kun taas neljässä ihmistutkimuksista yhteyttä runsasproteiinisen ruoan ja *Bacteroidesin* lisääntymisen välillä ei havaittu (Taulukko 3). *In vitro* -tutkimukset olivat yksimielisempiä, ja useimmissa todettiin proteiinien fermentaation lisäävän *Bacteroidesin* määrää (Taulukko 1). *In vitro* -tutkimusten avulla on voitu osoittaa eri mikrobien proteolyttista aktiivisuutta ja niiden perusteella *Bacteroides* on yksi proteiineja eniten fermentoivista bakteereista. Yhdessä ihmistutkimuksessa ja yhdessä eläintutkimuksessa todettiin kuitenkin päinvastainen tulos: runsasproteiininen ruokavalio vähensi *Bacteroidesin* määrää verrattuna normaaliproteiiniseen kontrolliruokavalioon (Russell ym. 2011) ja lihaa sisältävä ruokavalio vähensi *Bacteroidesin*

määrää verrattuna soijaproteiinia tai kaseiinia sisältävään ruokavalioon (Liu ym. 2014). Ihmis- ja eläintutkimusten perusteella ei siis voida vetää selkeitä johtopäätöksiä proteiinien fermentaation vaikutuksista *Bacteroidesin* määrään, mutta kun huomioidaan kaikki tutkimukset, vaikuttaa kuitenkin siltä, että proteiinien fermentaatio on yhteydessä *Bacteroidesin* määrän kasvuun.

Mahdollisesti patogeeniset mikrobit lisääntyivät joissakin tutkimuksista proteiinien fermentaation myötä. Useiden *in vitro*- ja eläintutkimusten perusteella patogeenisten bakteerien lisääntyminen oli yhteydessä proteiinien fermentaatioon (Taulukot 1 ja 2). Näitä bakteereita ovat esimerkiksi jotkin *Escherichia*-, *Shigella*- *Clostridium* ja *Bacteroides*-sukujen bakteerit. Ihmistutkimuksissa yhteyttä proteiinien fermentaation ja patogeenien lisääntymisen välillä ei havaittu, joten siitä ei voida tehdä suoria johtopäätöksiä. Esimerkkejä *Bacteroides*- ja *Clostridium*-sukuihin kuuluvista patogeenisistä bakteereista ovat muun muassa *B. fragilis*, *C. difficile*, *C. sordelii* *C. perfringens* ja *C. rodentium*. Muita patogeeneja ovat esimerkiksi enterohemorraaginen *E. coli*, enterotoksinen *E. coli*, *Shigella* ja *Staphylococcus aureus*. Nämä patogeenit tuottavat proteaaseja, jotka voivat olla haitallisia epiteelikudoksille. Haitalliset bakteerien tuottamat proteaasit voivat olla yhteydessä muun muassa tulehdukselliseen suolistosairauteen ja ärtyvän suolen oireyhtymään. Kuitenkin *Bacteroides*- ja *Clostridium* -sukuihin kuuluu suuri määrä eri lajeja, joista osa voi olla terveydelle edullisia, osa haitallisia ja osa neutraaleita. Ei siis voida aina yksiselitteisesti sanoa tietyn proteiinien fermentaation seurauksena lisääntyneen bakteerisuvun olevan haitallinen terveydelle.

Suolistomikrobisto on yhdistetty monien suoliston sairauksien, kuten tulehduksellisen suolistosairauden, ärtyvän suolen oireyhtymän ja paksusuolen syövän kehittymiseen (Walsh ym. 2014). Tulehdukselliseen suolistosairauteen liittyy olennaisesti suoliston bakteerien monipuolisuuden väheneminen ja *Roseburian* sekä *Faecalibacterium prausnitzii* määrien väheneminen. Näiden bakteerien määrät vähenivät myös proteiinien fermentaation seurauksena useissa tutkimuksissa (Taulukot 2 ja 3). Eläinperäinen ruokavalio lisäsi myös Davidin ym. (2014) interventiotutkimuksessa *Bilophila wadsworthian* kasvua, mikä on yhdistetty tulehduksellisen suolistosairauden ilmenemiseen. Yksi esimerkki paksusuolen syöpään yhdistetyistä bakteereista on *Escherichia coli* (Walsh ym. 2014), jonka määrä lisääntyi proteiinien fermentaation myötä useissa *in vitro*- ja eläintutkimuksissa (Taulukot 1 ja 2). *E. coli* on myös yhdistetty nitrosoamiinien tuotantoon, jotka ovat hyvin tunnettuja karsinogeenijä (Scott ym. 2013). Vaikuttaa siltä, että suoliston sairauksien ja proteiinien fermentaation välillä

esiintyy osittain samankaltaisia suoliston mikrobiston muutoksia. Proteiinipitoisen ruokavalion mahdolliset terveyshaitat voivat osittain välittyä näiden mikrobivaikutusten kautta.

Tutkimustulokset ovat osittain ristiriitaisia keskenään ja ne voivat vaihdelle monista eri syistä johtuen. Tutkimusasetelmat ovat usein erilaiset, eivätkä tutkimukset mikrobivaikutuksista ole aina vertailtavissa keskenään. Runsasproteiininen ruokavalio on voitu koostaa ihmis- ja eläintutkimuksissa monella eri tavalla, kuten lisäämällä lihan määrää tai täydentämällä ruokaa proteiinilisällä. Koeruokavalioiden proteiinipitoisuudet vaihtelevat eri tutkimuksissa, mikä voi vaikuttaa tuloksiin. Proteiinipitoisuus jää jopa osassa interventiotutkimuksista epäselväksi. Eri proteiininlähteet vaikuttavat eri tavalla paksusuolen mikrobikoostumukseen ja fermentaatioon. *In vitro* -tutkimuksissa osoitettiin eri mikrobien fermentoivan eri aminohappoja (Smith ja Macfarlane 1998). Lihan laatu ja valmistustapa vaikuttavat siihen, mitä mikrobeja proteiinien fermentaatioon osallistuu (Shen ym. 2010). Ihmistutkimusten tuloksiin voi vaikuttaa myös yksilöiden välinen vaihtelu suoliston mikrobikoostumuksessa. Suuren vaihtelun takia mikrobikoostumukset eivät aina eroa tilastollisesti merkitsevästi keskenään eri ruokavaliota syöneiden välillä. Tämä aiheuttaa sen, ettei tutkimustuloksia proteiinien fermentaation mikrobivaikutuksista voida yksiselitteisesti yleistää kaikille ihmisille.

Kun proteiinien määrä ruokavaliossa lisääntyy, hiilihydraattien ja niitä fermentoivien bakteerien määrät vastaavasti yleensä vähenevät. Proteiinien fermentaatiota enemmän paksusuolen mikrobiomiin ja suoliston terveyteen saattaa vaikuttaa fermentoituvien hiilihydraattien määrän väheneminen (Yao ym. 2016). Fermentoituvilla hiilihydraateilla on myönteisiä vaikutuksia paksusuolen terveyteen. Lisäksi on hankala arvioida aiheuttaako lisääntynyt proteiinien fermentaatio paksusuolella haitallisia muutoksia paksusuolen mikrobiomiin, vai ovatko haitalliset muutokset seurausta muusta syödyistä ruoasta, esimerkiksi lihan muiden ainesosien, kuten tyydyttyneen rasvan suuremmasta saannista. Fermentoituvien hiilihydraattien määrä ei tämän kirjallisuuskatsauksen tutkimusruokavaliossa ollut aina sama. Esimerkiksi jos runsasproteiinisen koeruokavaliota ja normaaliproteiinisen kontrolliruokavaliota fermentoituvien hiilihydraattien määrät eivät ole samat, eivät ruokavalioiden vaikutukset ole vertailukelpoisia keskenään, mikäli tarkastellaan proteiinien fermentaatiota.

Suolistomikrobiston merkitystä terveydelle on alettu ymmärtämään vasta viime vuosina. Sen koostumuksen tutkiminen on vaikeaa mikrobiomin laajuuden, monipuolisuuden ja anaerobisuuden takia (Aro ym. 2014). Anaerobinen suolistomikrobien viljely on haasteellista ja vain noin 20–30 % suoliston mikrobeista on nyky menetelmin viljeltävissä laboratorio-

olosuhteissa. Luotettavan kokonaiskuvan saaminen proteiinien fermentaation vaikutuksista paksusuolen mikrobiomiin on siis vaikeaa.

Ihmisillä tehdyt tutkimukset rajoittuvat lähinnä ulostenäytteillä tehtyihin tutkimuksiin, koska paksusuolen limakalvonäytteitä ei eettisistä syistä voida terveiltä ihmisiltä ottaa (Aro ym. 2014). Ulostenäytteet kuvaavat melko huonosti paksusuolen alkupään mikrobistoa (Yao ym. 2016). Esimerkiksi ulosteesta mitatut fermentaatiotuotteiden määrät kertovat lähinnä paksusuolen loppupään aineenvaihdunnasta tuotteista, ei koko paksusuolen. Paksusuolen alkupään fermentaation tutkiminen on lähes mahdotonta ihmistutkimuksilla. Proteiinien fermentaatiotuotteet ja niiden vaikutukset ovat lisäksi melko huonosti tunnettuja ja niiden vaikutusta ei juurikaan ole testattu paksusuolen epiteelisoluihin (Davila ym. 2013).

Eläintutkimusten heikkoutena on se, että on vaikea tietää kuinka hyvin tutkittavan eläimen suolisto ja sen aineenvaihdunta vastaavat ihmisen suolistoa. Sikojen suolisto vastaa kuitenkin ihmisten suolistoa paremmin kuin rottien (Yao ym. 2016). Sioilla tehtyjä eläintutkimuksia, joissa olisi tarkasteltu proteiinien fermentaation mikrobivaikutuksia, on kuitenkin erittäin vähän. Eläinkokeisiin liittyy myös eettisiä haasteita muun muassa eläinten elinoloihin ja käsittelyyn liittyen. Eläintutkimuksilla voidaan toisaalta saada parempi kuva fermentaation vaikutuksista, koska niissä päässään käsiksi paksusuolen sisältöön, mikä saattaa kertoa ulostenäytteitä paremmin proteiinien fermentaatiosta.

In vitro -suolistomalleilla voidaan tutkia proteiinien fermentaatiota ja sen mikrobivaikutuksia (Payne ym. 2011). Fermentaatiomallien, kuten muidenkin *in vitro* -menetelmien etuna on se, ettei niihin liity samanlaisia eettisiä ongelmia kuin ihmis- ja eläintutkimuksiin. Suolistomallien avulla saadaan hyvin jäljiteltäviä ihmisen paksusuolta, koska niiden olosuhteet, kuten lämpötila, pH ja hapen määrä, saadaan pidettyä vakioina. *In vitro* -suolistomallien heikkoutena on toisinaan huono toistettavuus sekä mikrobien vakauden ja pitkäaikaisten vaikutusten arvioinnin vaikeus. Suolistomalleilla tehtyjä tutkimuksia proteiinien fermentaatiosta tarvittaisiin lisää, koska tällä hetkellä niitä on todella vähän.

Tulevaisuudessa proteiinien fermentaatiota voidaan tutkia esimerkiksi nieltävien kapselien tai metabolomiikan avulla (Yao ym. 2016). Nieltävissä kapsleissa on sensoreita, jotka mittaavat haihtuvia yhdisteitä suolen sisältä. Metabolomiikalla tarkoitetaan kokonaisvaltaista aineenvaihduntatuotteiden määrittämistä ja se keskittyy pienten molekyylien tutkimiseen magneettista resonanssia ja massaspektrometriaa hyväksikäyttäen. Metabolomiikan avulla

voidaan aikaisempaa enemmän ymmärtää paksusuolen biokemiallista ja metabolista tilaa. Tämän avulla voidaan määrittää metabolisten profiilien eroja terveiden ja sairaiden välillä sekä ymmärtää paksusuolen mikrobiston vaikutuksia paremmin.

6 JOHTOPÄÄTÖKSET

Eri ruokavaliot muuttavat paksusuolen mikrobiomia ja fermentaatiota, mutta yhteydet proteiinien fermentaation ja eri mikrobien välillä ovat osittain epäselvät. Proteiinien fermentaatio vähentää hiilihydraatteja fermentoivien bakteerien, erityisesti *Roseburian* ja *Eubacterium rectalen*, määriä. Proteiinien fermentaatio näyttää myös lisäävän *Bacteroides*-suvun bakteerien kasvua, mutta tutkimustulokset eivät ole yksimielisiä etenkin ihmistutkimusten perusteella. *In vitro*- ja eläintutkimusten perusteella proteiinien fermentaatio saattaa lisätä patogeenisien bakteerien kasvua, mutta ihmistutkimuksissa proteiinien fermentaation vaikutukset patogeeneihin ovat epäselvät. Muiden mikrobien osalta tutkimusten välillä oli suurta vaihtelua, mikä voi johtua monista sekoittavista tekijöistä, kuten vaihtelevista tutkimusasetelmista, suolistomikrobiston yksilöllisistä eroista ja fermentoituvista hiilihydraateista.

Tämän kirjallisuuskatsauksen perusteella vaikuttaa siltä, että proteiinien fermentaatio voi johtaa haitallisiin mikrobimuutoksiin paksusuoleessa. Tutkimuksia aiheesta löytyy kuitenkin melko vähän ja aihe on melko huonosti tunnettu. *In vitro*-, eläin- ja ihmistutkimuksia tarvitaan lisää, jotta saadaan parempi käsitys siitä, mikä merkitys proteiinien fermentaatiolla on suolen ja ihmisen terveyteen. Tarvitaan myös lisää pelkästään proteiinien fermentaatiota käsitteleviä tutkimuksia, joissa sekoittavat tekijät, kuten fermentoituvat hiilihydraatit, on paremmin huomioitu.

LÄHTEET

Aguirre M, Eck A, Koenen ME, Savelkoul PHM, Budding AE, Venema K. Diet drives quick changes in the metabolic activity and composition of human gut microbiota in a validated in vitro gut model. *Research in Microbiology* 2016;167:114-125.

Aro A, Mutanen M, Uusitupa M. Ravitsemustiede. Duodecim, Helsinki 2014.

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto J, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen HB, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal EG, Wang J, Guarner F, Pedersen O, de Vos WM, Brunak S, Doré J, Antolín M, Artiguenave F, Blottiere HM, Almeida M, Brechot C, Cara C, Chervaux C, Cultrone A, Delorme C, Denariáz G, Dervyn R, Foerstner KU, Friss C, van de Guchte M, Guedon E, Haimet F, Huber W, van Hylekama-Vlieg J, Jamet A, Juste C, Kaci G, Knol J, Lakhdari O, Layec S, Le Roux K, Maguin E, Mérieux A, Melo Minardi R, M'rini C, Muller J, Oozeer R, Parkhill J, Renault P, Rescigno M, Sanchez N, Sunagawa S, Torrejon A, Turner K, Vandemeulebrouck G, Varela E, Winogradsky Y, Zeller G, Weissenbach J, Ehrlich SD, Bork P. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473:174-180.

Beaumont M, Portune KJ, Steuer N, Lan A, Cerrudo V, Audebert M, Dumont F, Mancano G, Khodorova N, Andriamihaja M, Airinei G, Tomé D, Benamouzig R, Davila A, Claus SP, Sanz Y, Blachier F. Quantity and source of dietary protein influence metabolite production by gut microbiota and rectal mucosa gene expression: a randomized, parallel, double-blind trial in overweight humans. *Am J Clin Nutr* 2017;106:1005-1019.

Bender DA. *Amino Acid Metabolism*. Hoboken, United Kingdom: John Wiley & Sons, Incorporated 2012.

Corpet DE, Yin Y, Zhang XM, Remesy C, Stamp D, Medline A, Thompson L, Bruce WR, Archer MC. Colonic protein fermentation and promotion of colon carcinogenesis by thermolyzed casein. *Nutr Cancer* 1995;23:271-281.

Cummings JH. *The large intestine in nutrition and disease*. Bruxelles: Institut Danone 1997.

David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, Ling AV, Devlin AS, Varma Y, Fischbach MA, Biddinger SB, Dutton RJ, Turnbaugh PJ. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* 2014;505:559-563.

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

Duncan SH, Lobley GE, Holtrop G, Ince J, Johnstone AM, Louis P, Flint HJ. Human colonic microbiota associated with diet, obesity and weight loss. *International Journal of Obesity* 2008;32:1720-1724.

Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobley GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:1073-1078.

Geypens B, Claus D, Evenepoel P, Hiele M, Maes B, Peeters M, Rutgeerts P, Ghooos Y. Influence of dietary protein supplements on the formation of bacterial metabolites in the colon. *Gut* 1997;41:70-76.

Gilbert J-A, Bendsen NT, Tremblay A, Astrup A. Effect of proteins from different sources on body composition. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2011;21: B16-B31

Hughes R, Cross AJ, Pollock JR, Bingham S. Dose-dependent effect of dietary meat on endogenous colonic N-nitrosation. *Carcinogenesis* 2001;22:199-202.

Hughes R, Magee EA, Bingham S. Protein degradation in the large intestine: relevance to colorectal cancer. *Curr Issues Intest Microbiol* 2000;1:51-58.

Le Leu RK, Brown IL, Hu Y, Morita T, Esterman A, Young GP. Effect of dietary resistant starch and protein on colonic fermentation and intestinal tumourigenesis in rats. *Carcinogenesis* 2007;28:240-245.

Liu X, Blouin J, Santacruz A, Lan A, Andriamihaja M, Wilkanowicz S, Benetti P, Tomé D, Sanz Y, Blachier F, Davila A. High-protein diet modifies colonic microbiota and luminal

environment but not colonocyte metabolism in the rat model: the increased luminal bulk connection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014;307:459.

Ma N, Tian Y, Wu Y, Ma X. Contributions of the Interaction Between Dietary Protein and Gut Microbiota to Intestinal Health. *Current Protein & Peptide Science* 2017;18:795-808.

Macfarlane GT, Cummings JH, Allison C. Protein degradation by human intestinal bacteria. *J Gen Microbiol* 1986;132:1647-1656.

Moreno-Pérez D, Bressa C, Bailén M, Hamed-Bousdar S, Naclerio F, Carmona M, Pérez M, González-Soltero R, Montalvo-Lominchar MG, Carabaña C, Larrosa M. Effect of a Protein Supplement on the Gut Microbiota of Endurance Athletes: A Randomized, Controlled, Double-Blind Pilot Study. *Nutrients* 2018;10:337.

Mu C, Yang Y, Luo Z, Zhu W. Temporal microbiota changes of high-protein diet intake in a rat model. *Anaerobe* 2017;47:218-225.

Mu C, Yang Y, Xuan Luo Z, Guan LT, Chen Bin Zhu W. The Colonic Microbiome and Epithelial Transcriptome Are Altered in Rats Fed a High-Protein Diet Compared with a Normal-Protein Diet. *The Journal of Nutrition* 2016;146:474–483.

Opapeju FO, Krause DO, Payne RL, Rademacher M, Nyachoti CM. Effect of dietary protein level on growth performance, indicators of enteric health, and gastrointestinal microbial ecology of weaned pigs induced with postweaning colibacillosis. *J Anim Sci* 2009;87:2635-2643.

Payne AN, Zihler A, Chassard C, Lacroix C. Advances and perspectives in in vitro human gut fermentation modeling. *Trends in Biotechnology* 2011;30:17-25.

Richardson AJ, McKain N, Wallace RJ. Ammonia production by human faecal bacteria, and the enumeration, isolation and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids. *BMC microbiology* 2013;13:6.

Rolhion N, Chassaing B. When pathogenic bacteria meet the intestinal microbiota. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2016; 371(1707)

Russell WR, Gratz SW, Duncan SH, Holtrop G, Ince J, Scobbie L, Duncan G, Johnstone AM, Lobley GE, Wallace RJ, Duthie GG, Flint HJ. High-protein, reduced-carbohydrate weight-loss diets promote metabolite profiles likely to be detrimental to colonic health. *The American journal of clinical nutrition* 2011;93:1062-1072.

Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res* 2013;69:52-60.

Shen Q, Chen YA, Tuohy KM :A comparative in vitro investigation into the effects of cooked meats on the human faecal microbiota. *Anaerobe* 2010;16:572-577.

Silvester KR, Cummings JH. Does digestibility of meat protein help explain large bowel cancer risk? *Nutrition and cancer* 1995;24:279-288.

Smith EA, Macfarlane GT. Enumeration of amino acid fermenting bacteria in the human large intestine: effects of pH and starch on peptide metabolism and dissimilation of amino acids. *FEMS Microbiology Ecology* 1998;25:355-368.

Topping DL, Toden S, Conlon MA, Bird AR. Resistant starch prevents colonic DNA damage induced by high dietary cooked red meat or casein in rats. *Cancer Biology & Therapy* 2006;5:267-272.

Walsh CJ, Guinane CM, O'Toole PW, Cotter PD. Beneficial modulation of the gut microbiota. *FEBS Letters* 2014;588:4120-4130.

Windey K, De Preter V, Louat T, Schuit F, Herman J, Vansant G, Verbeke K. Modulation of protein fermentation does not affect fecal water toxicity: a randomized cross-over study in healthy subjects. *PLoS ONE* 2012a;7:e52387.

Windey K, De Preter V, Verbeke K. Relevance of protein fermentation to gut health. *Molecular nutrition & food research* 2012b;56:184-196.

Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman

FD, Lewis JD. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science* 2011;334:105-108.

Yao CK, Muir JG, Gibson PR. Review article: insights into colonic protein fermentation, its modulation and potential health implications. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43:181-196.

Zhu Y, Lin X, Li H, Li Y, Shi X, Zhao F, Xu X, Li C, Zhou G. Intake of Meat Proteins Substantially Increased the Relative Abundance of Genus *Lactobacillus* in Rat Feces. *PLoS ONE* 2016;11:e0152678.