

Funkčné poruchy trávenia a mikrobióm

Cielená kombinácia 5 imunomodulačných probiotických kmeňov a OMEGA3 mastných kyselín

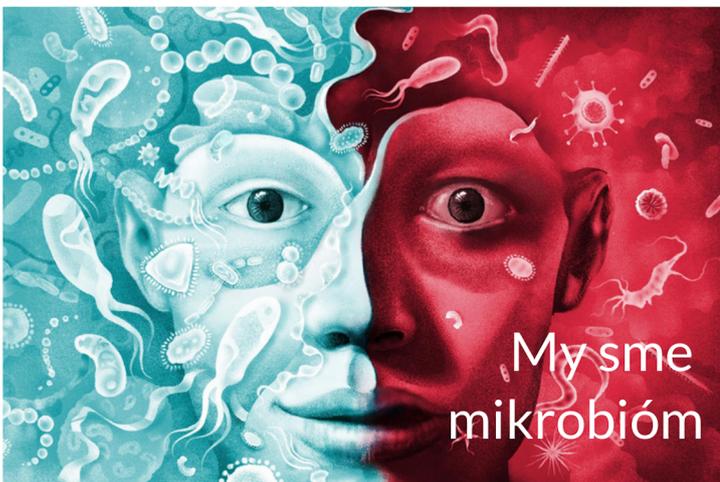


KLINICKÁ ŠTÚDIA

- 14-týždňová
- paralelná
- randomizovaná
- dvojito zaslepená
- placebom kontrolovaná
- na súbore 109 pacientov

Cielená kombinácia 5 imunomodulačných probiotických kmeňov a OMEGA3 mastných kyselín

Probiotické bakteriálne kmene v tejto štúdii boli starostlivo vybrané na základe ich vedecky preukázateľných pozitívnych účinkov pri manažmente symptómov funkčných porúch trávenia.



V roku 2018 sa uskutočnila klinická štúdia cielenej kombinácie 5 probiotických baktérií, aby sa vyhodnotil efekt na zmierňovanie príznakov funkčných porúch trávenia, predovšetkým syndrómu dráždivého čreva - IBS. Výsledky ukázali, že skúmaná probiotická zmes je účinná pri zlepšovaní závažnosti symptómov typu IBS. Po 6 týždňoch liečby bol zistený signifikantne vyšší podiel úspešnosti liečby, zníženie vnímania bolesti podľa rôznych klinických škál a modifikácia črevnej mikrobioty, charakterizovaná nárastom bifidobaktérií, ktoré sú stále detekovateľné 6 týždňov po vysadení probiotík.

KLINICKÁ ŠTÚDIA

Úvod

Funkčné gastrointestinálne poruchy (FGID), známe ako **poruchy osi črevo-mozog**, sa vyznačujú výraznými zmenami na úrovni profilu črevnej mikrobioty a to znížením biodiverzity, výrazným znížením počtu bifidobaktérií a laktobacilov ako i nárastom počtu potenciálne patogénnych baktérií (1).

Vzniknutá **dysbióza** často krát vedie k porušeniu integrity črevného epitelu, k viscerálnej hypersenzitivite a abnormalitám motility čriev, čím sa zvyšuje **dysfunkcia črevnej bariéry**.

K **FGID** zaraďujeme okrem iného **syndróm dráždivého čreva (IBS)**, funkčnú dyspepsiu (FD) či **spektrum symptómov** ako sú bolesti/pálenie brucha, nadúvanie, nevoľnosť, plnosť, zvracanie a zmenené návyky čriev ako je hnačka, zápcha alebo oboje.

Táto klinická štúdia odhalila, že **probiotická zmes laktobacilov a bifidobaktérií** je účinná pri znižovaní závažnosti symptómov podobných IBS modifikáciou črevnej mikrobioty, predovšetkým zvýšením počtu bifidobaktérií a laktobacilov. Závažnosť symptómov IBS podľa vybraných stupníc hodnotenia sa významne znížila v skupine s probiotikami v porovnaní so skupinou s placebom ako aj v porovnaní na začiatku a na konci klinickej štúdie.

Ciele

Primárnym cieľom klinickej štúdie bolo vyhodnotiť účinnosť a bezpečnosť probiotickej zmesi u pacientov s príznakmi **syndrómu dráždivého čreva**.

Metodika

Pacienti s príznakmi typu IBS vstúpili do prospektívnej, dvojito zaslepenej, randomizovanej placebom kontrolovanej štrnásťtýždňovej štúdie.

Šesťtýždňovému liečebnému obdobiu (3 - 8 týždň) predchádzala dvojtýždňová adaptačná fáza a nasledovala 6-týždňová pozorovacia fáza.

Klinické údaje boli monitorované v celej štúdií overenými dotazníkmi: **Systém hodnotenia závažnosti IBS (IBS-SSS); Stupnica hodnotenia gastrointestinálnych symptómov (GSRS) a Stupnica formy stolice Bristol (BSFS)**. Fekálna mikrobiota sa testovala pomocou kultivácie a 16S rRNA sekvenčnej analýzy (1).

Tabuľka 1. Základná charakteristika účastníkov štúdie
*Medián (rozsah)

†Normálna hodnota TIG-IgA <10 IU/ml

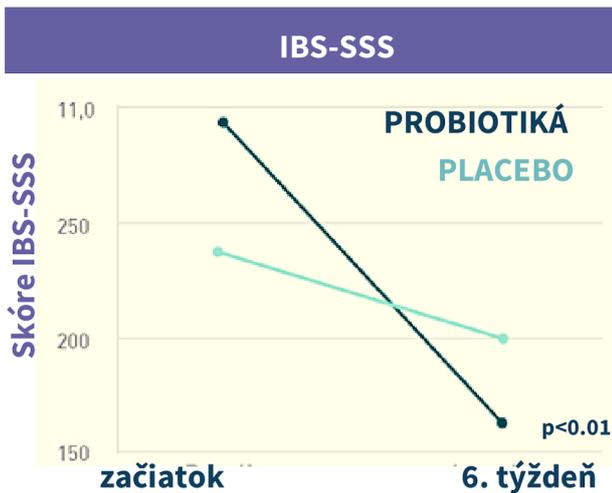
BMI, index telesnej hmotnosti; CI, interval spoľahlivosti; NS, nevýznamný; TIG-IgA, tkanivová transglutamináza - imunoglobulín-A. Upravené podľa Francavilla a kol., 2019

	Probiotikum (n = 54)	Placebo (n = 55)	P
Vek	43.3± 19	44.6± 19	NS
Pohlavie (m/ž)	6/35	9/46	NS
BMI kg/m ²	22.8±3.5	23.4±2.9	NS
TIG-IgA (IU/mL)*†	0.8 (0-1.2)	0.5 (0-2.1)	NS
IBS-SSS	295± 84.9 (95% CI, 269-320)	237.6±86.5 (95% CI, 13.4-27.5)	0.01
GSRS	18.7± 5.8 (95% CI, 14.6-26.1)	14.9± 5.1 (95% CI, 13.4-27.5)	0.02
BSFS	2.6± 1.2	2± 1.5	NS

Výsledky

1) Systém hodnotenia závažnosti IBS (IBS-SSS)

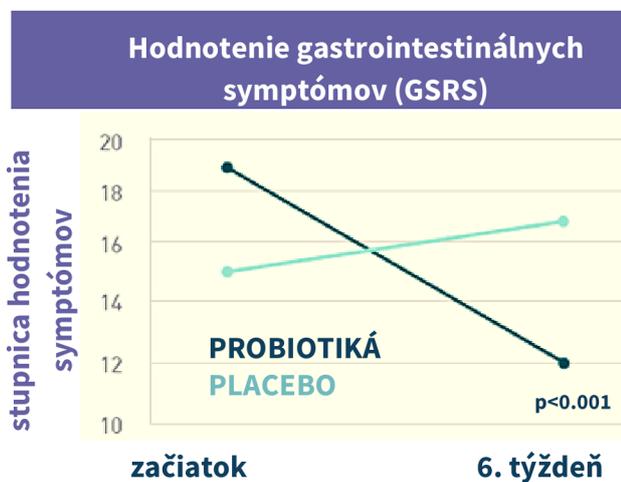
Závažnosť symptómov IBS podľa stupnice hodnotenia IBS-SSS v skupine s probiotikami sa významne znížila v porovnaní s placebom (-21,4%± 15,5% oproti -6,8%± 21,7%; $p < 0,01$) (Obrázok 1) (1).



Obrázok 1. Vyhodnotenie závažností symptómov IBS.

2) Stupnica hodnotenia gastrointestinálnych symptómov (GSRs) a Stupnica formy stolice Bristol (BSFS)

Závažnosť symptómov IBS podľa stupnice hodnotenia GSRs v skupine s probiotikami sa významne znížila v porovnaní s placebom (-19,8 % ± 16,6 % vs. 12,9 % ± 31,6 %; $p < 0,001$) (Obrázok 2) (tabuľka 2).



Obrázok 2. Vyhodnotenie závažností gastrointestinálnych symptómov.

Na konci liečby sa skóre BSFS v skupine s probiotikami významne znížilo v porovnaní s placebom (-3,3 % ± 41,6 % vs. 51,5% ± 101,1 %; $P < 0,01$) (1).

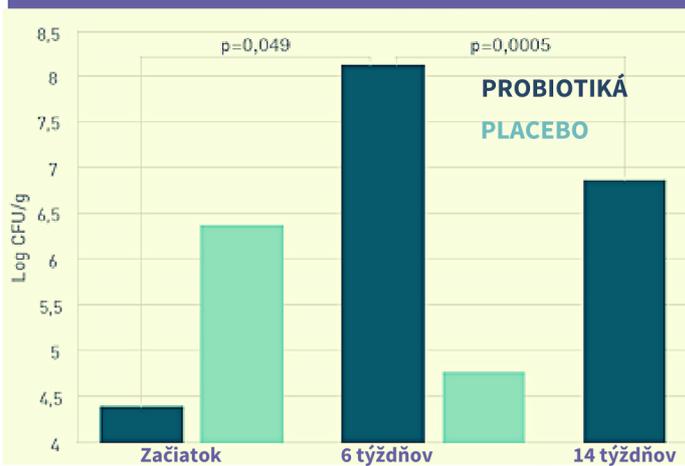
Klinické skóre	Probiotiká (n=54)	Placebo (n=55)	P
IBS-SSS	170.1± 53.4 (95% CI, 154-187)	200.8± 74.4 (95% CI, 179-223)	0.008
ΔoZ	-15.9%± 14,8% (95% CI, -20.4 - -11.4)	8.2%±25.9% (95% CI, 0.3-16.2)	0.001
GSRs	12.2±5.5 (95% CI, 11.6-14.9)	16.7±6.7 (95% CI, 14.5-18.8)	0.007
ΔoZ	-19.8%±16.6% (95% CI, -24.8 - -14.8)	12.9%±31.6% (95% CI, 3.2-22.6)	0.001
BSFS	2.2 ±1.3	3.1 ±1.9	NS
ΔoZ	-3.3%±41.6% (95% CI, -16 - 9.3)	51.5%±101.1% (95% CI, 20.4- 82.6)	0.01

Tabuľka 2. Klinické skóre na konci liečby; CI, interval spoľahlivosti; NS, nevýznamný; ΔoZ zmena oproti začiatku, upravené podľa Francavilla a kol., 2019.

(3) Vyhodnotenie fekálnych kultivovateľných baktérií a mikrobiómu

V porovnaní s východiskovou hodnotou sa celkové počty anaeróbov zvýšili zo 7,02 na 8,35 log CFU/g (stredné hodnoty, $P=0,018$) po 6 týždňoch liečby probiotikami. Liečba probiotikami vedie aj k nárastu predpokladaných baktérií mliečneho kvasenia (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* a *Bifidobacterium*) (Obrázok 3). V porovnaní s východiskovou hodnotou bola po 6 týždňoch liečby probiotikami zistená aj vyššia hladina predpokladaných bifidobaktérií (Obrázok 4).

Nárast počtu *Lactobacillus* spp



Obrázok 3. Nárast počtu laktobacilov v skupine placebo vs. v skupine s probiotikami.

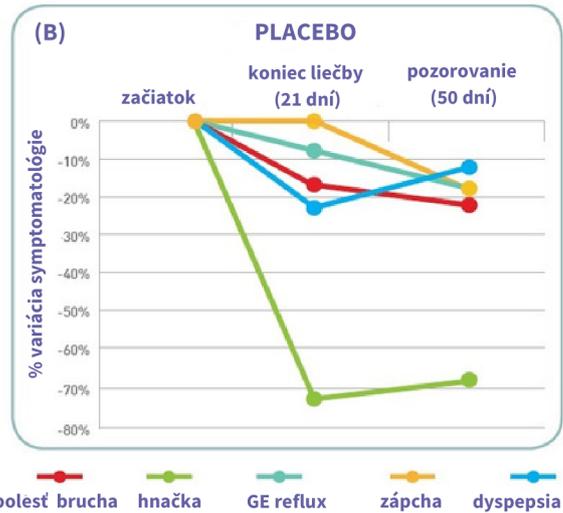
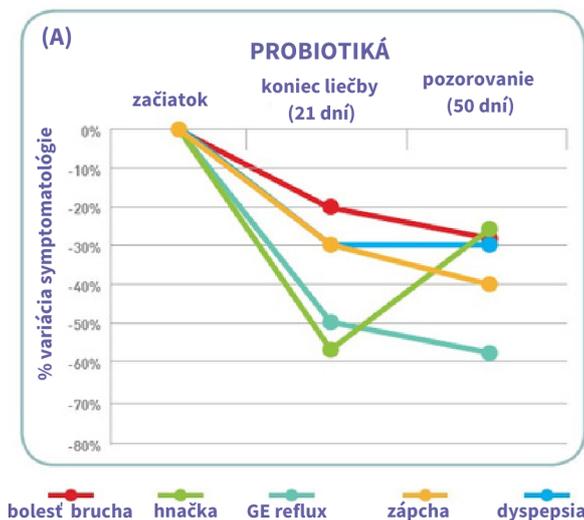
Nárast počtu *Bifidobacterium* spp.



Obrázok 4. Nárast počtu bifidobaktérií v skupine placebo vs. v skupine s probiotikami.

Úspešnosť liečby

Úspešnosť liečby bola signifikantne vyššia u pacientov užívajúcich probiotiká v porovnaní s placebom pri analýze zámeru liečby (14,8 % oproti 3,6 %; $p < 0,04$) aj podľa protokolu (15,3 % oproti 3,8 %; $p < 0,04$) (Obrázok 5 A a B) (1).



Obrázok 5. Vyhodnotenie variácie symptomatológie u skupiny s probiotikami (A) a skupiny s placebom (B).

IN-VITRO ŠTÚDIE

Celiakia je autoimunitná enteropatia spôsobená neznášanlivosťou gluténových proteínov. *In vitro* štúdia z roku 2020 je zameraná na vyhodnotenie schopnosti cieľenej kombinácie 5 probiotických baktérií hydrolyzovať gluténové peptidy po simulovanom gastrointestinálnom trávení gliadínu v bunkách Caco-2.

Hodnotila sa aj schopnosť bakteriálnych hydrolyzátorov pôsobiť proti toxickým účinkom peptidov odvodených od gliadínu v bunkách Caco-2. Výsledky tejto štúdie naznačujú, že tieto probiotické kmene sú schopné znížiť toxicitu gliadínu, ktorý zostáva po pepticko-tryptickom štiepení degradáciou imunodominantných gliadínových peptidov, čím inhibujú ich škodlivé účinky na črevné epitelové bunky a tak môžu mať ochrannú úlohu pri celiakii.

Ciele

Primárnym cieľom bolo zhodnotiť schopnosť cieľenej kombinácie 5 probiotických baktérií tráviť gliadínové peptidy *in vitro* a modifikovať gliadínom indukovanú prozápalovú odpoveď a zmeny štruktúry epitelu v línii ľudských črevných buniek Caco-2 (2).

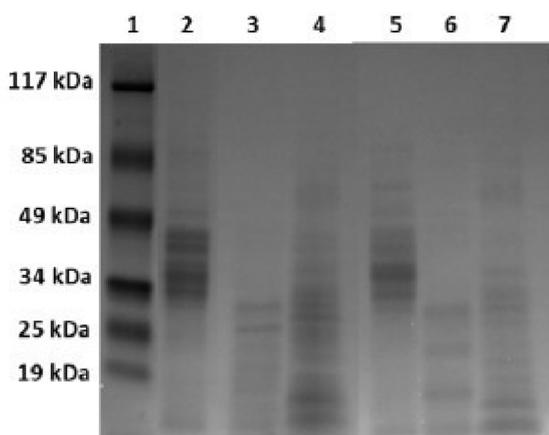
Metodika

In vitro štúdiá pozorovala proteolytickú aktivitu vybraných probiotických kmeňov v alikvótoch s komplexom gliadín/enzým (PT-gliadín, P: pepsín, T: trypsín alebo chymotrypsín w/w, pomer 1:40) ako aj so surovým gliadínom v porovnaní s kontrolnou vzorkou bez probiotických baktérií (2).

Výsledky

1) Proteolytická aktivita cieľenej kombinácie 5 probiotických baktérií

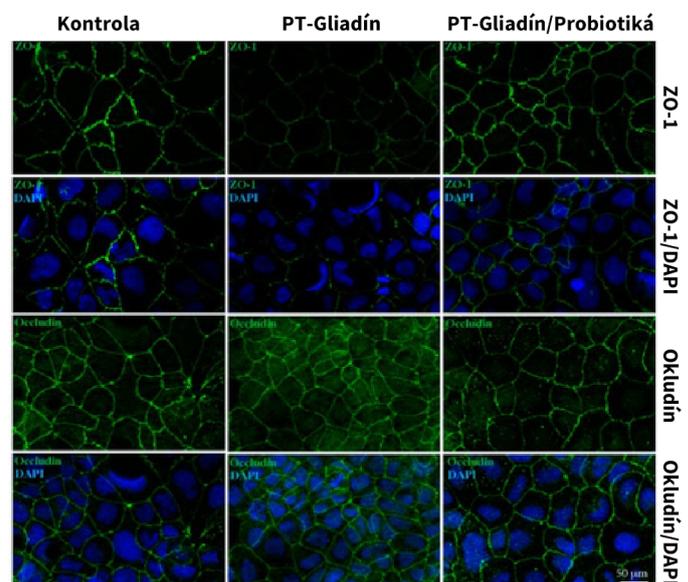
Výsledky **analýzy gliadínov** prostredníctvom **SDS-PAGE** naznačujú, že po prvom enzymatickom štiepení kombináciou pepsínu a trypsínu (PT, dráha 3) alebo samotným chymotrypsínom (chymo-, dráha 4) sú vybrané probiotické baktérie schopné ďalej štiepiť gliadín na fragmenty s molekulovou hmotnosťou menšou ako 35kDa (dráha 6,7). Navyše sa zdá, že gliadín neošetrený tráviacimi enzýmami (dráha 2) je čiastočne trávený baktériami (dráha 5), čo hovorí v prospech ich proteolytickej aktivity aj bez predošlého natrávenia (Obrázok 6). Výsledky teda naznačujú, že probiotiká dokážu pomôcť s trávením gliadínu (2).



Obrázok 6. Analýza gliadínov elektroforézou na polyakrylamidovom géli s dodecylsulfátom sodným (SDS-PAGE). (1) Markery molekulovej hmotnosti (MW); (2) Gliadín štandard; (3) PT-gliadín; (4) chymo-gliadín; (5) gliadín + bakt.; (6) PT-gliadín + bakt.; (7) Chymo-gliadín + bakt. Upravené podľa Giorgi a kol., 2020.

2) Účinok PT-Gliadínu a PT-Gliadín/Probiotiká na Caco-2 tesné spojenia

Výsledky ukazujú, že neošetrené monovrstvy Caco-2 mali typickú lokalizáciu ZO-1 a okludínu na bunkovej periférii (3), zatiaľ čo ošetrenie PT gliadínom počas 3 hodín indukovalo výrazné zníženie fluorescence ZO-1 a redistribúciu okludínu na úrovni cytosólu, čo môže viesť k oslabeniu tesných spojov bariéry a zvýšeniu jej priepustnosti. Keď boli bunky ošetrené PT-gliadínom/probiotikami, uvoľňovanie ZO-1 ani redistribúcia okludínu neboli pozorované, čo nasvedčuje schopnosť probiotík chrániť tesné spoje (Obrázok 7).



Obrázok 7. Bunky Caco-2 zafarbené na detekciu zonulínu (ZO-1) alebo okludínu. Bunky boli ošetrené 1 mg/ml PT gliadínu alebo PT-gliadínu/probiotík a po 3 hodinách ošetrenia boli bunky fixované a zafarbené protilátkami proti ZO-1 alebo okludínu a 4',6-diamidino-2-fenylindolom (DAPI) na kontrastné farbenie jadier. Upravené podľa Giorgi a kol., 2020.

3) Modulácia produkcie IL-6 a oxidačného stresu bunkami Caco-2 vystavenými PT-gliadínu trávenému alebo netrávenému baktériami

PT-gliadín bol schopný spôsobiť významné zvýšenie produkcie IL-6 v porovnaní s kontrolou. V prítomnosti PT-gliadínu/probiotík, nebolo možné pozorovať žiadne zvýšenie IL-6, namiesto toho bolo pozorované významné zníženie produkcie IL-6 v porovnaní s kontrolnými bunkami, čo naznačuje protizápalový ochranný efekt probiotík (2).

OMEGA-3 PUFA A ZVÝŠENIE ÚČINNOSTI PROBIOTÍK

Kombinácia probiotík so synergicky pôsobiacimi zložkami prírodného pôvodu je vhodným spôsobom **na zvýšenie účinnosti probiotických prípravkov**. Zdá sa, že na potencovanie účinku probiotík možno použiť množstvo vhodných komponentov, ako sú aj **polynenasýtené mastné kyseliny (PUFA)**. Ich prítomnosť podporuje adhéziu probiotických baktérií (napr. *Lactobacillus* spp.) na receptory črevnej sliznice (4).

Omega-3 PUFA môžu mať pozitívny účinok tým, že pri týchto ochoreniach zmenia zloženie mikrobioty a zvýšia produkciu protizápalových zlúčenín, ako sú mastné kyseliny s krátkym reťazcom (acetát, propionát, butyrát). Okrem toho hromadiace sa dôkazy v štúdiách na zvieracích modeloch naznačujú, že súhra medzi črevnou mikrobiotou Omega-3 mastnými kyselinami a imunitou, pomáha udržiavať integritu črevnej steny a interaguje s imunitnými bunkami hostiteľa. Napokon, štúdie na ľuďoch a zvieratách zdôraznili schopnosť Omega-3 PUFA ovplyvňovať os črevo - mozog, a to prostredníctvom zloženia črevnej mikrobioty (5).

Záver

Súčasný výskum naznačuje, že závažnosť symptómov funkčných porúch trávenia, predovšetkým IBS možno zmierniť suplementáciou probiotickej zmesi laktobacilov a bifidobaktérií a to modifikáciou črevnej mikrobioty a nápravou dysbiózy.

Výsledky klinickej ako aj *in vitro* štúdie naznačujú, že vybrané kmene laktobacilov a bifidobaktérií sú vhodné pre pacientov s funkčnými poruchami trávenia, ako je IBS ako aj pre celiatikov, pre svoje antioxidantné a protizápalové aktivity a úlohu pri obnove črevnej bariéry.

Navyše, vybrané bakteriálne kmene sa zameriavajú priamo **na symptómy spojené s HIT, neprodukurujú**

histamín a tak sú vhodné aj pre ľudí s histamínovou intoleranciou (HIT).

Účinok cielene vybraných 5 probiotických kmeňov baktérií možno posilniť synergicky pôsobiacimi polynenasýtenými mastnými kyselinami (PUFA) Omega3-EPA a Omega3-DHA, ktoré podporujú tvorbu protizápalových zlúčenín a napomáhajú probiotickým baktériám uchytiť sa na črevnej sliznici.

Referencie

- (1) Francavilla R, *et al.* Clinical and Microbiological Effect of a Multispecies Probiotic Supplementation in Celiac Patients With Persistent IBS-type Symptoms: A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled, Multicenter Trial. *J Clin Gastroenterol.* 2019 Mar;53(3):e117-e125.
- (2) Giorgi A, *et al.* A Probiotic Preparation Hydrolyzes Gliadin and Protects Intestinal Cells from the Toxicity of Pro-Inflammatory Peptides. *Nutrients.* 2020 Feb 14;12(2):495.
- (3) Lei S, *et al.* Somatostatin ameliorates lipopolysaccharide-induced tight junction damage via the ERK-MAPK pathway in Caco2 cells. *Eur. J. Cell Biol.* 2014, 93,299-307.
- (4) Bomba A, *et al.* Improvement of the probiotic effect of microorganisms by their combination with maltodextrins, fructooligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. *Br J Nutr.* 2002 Sep;88 Suppl 1:S95-9.
- (5) Costantini L, Molinari R, Farinon B, Merendino N. Impact of Omega-3 Fatty Acids on the Gut Microbiota. *Int J Mol Sci.* 2017 Dec 7;18(12):2645.

Cielené probiotiká

Prinášajú pozitívne výsledky v štúdiách pri:

- + funkčné poruchy trávenia
- + celiakia
- + histamínová intolerancia
- + GE reflux
- + dyspepsia
- + posilnenie biodiverzity

Tieto informácie neboli vyhodnotené Úradom verejného zdravotníctva SR. Ani informácie, ani žiadne uvedené vzorce nie sú určené na diagnostiku, liečbu, liečenie alebo prevenciu akejkoľvek choroby.