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 .

Perbiotix
microbiome solutions

Perbiotix, s.r.o. | Palárikova 2657
022 01 Čadca | www.perbiotix.sk

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 týždeň) predchádzala dvojtýždňová adaptačná fáza a nasledovala 6-týždňová pozorovacia fáza.

Klinické údaje boli monitorované v celej štúdii 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).

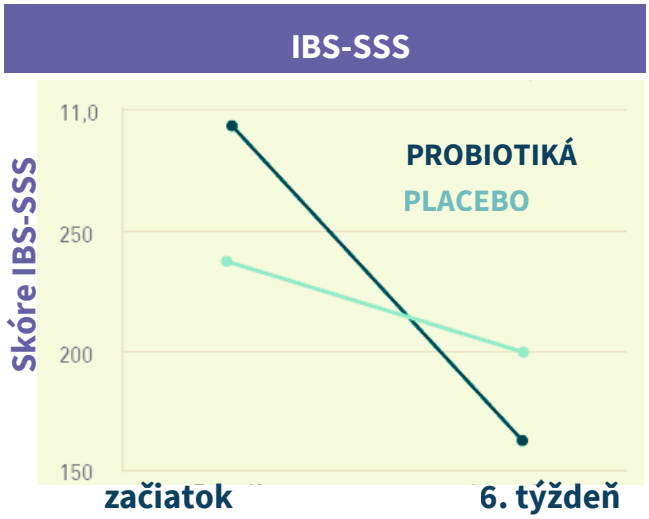
Tabuľka 1. *Základná charakteristika účastníkov štúdie*
**Medián (rozsah)*
†Normálna hodnota TTG-IgA <10 IU/ml
BMI, index telesnej hmotnosti; CI, interval spoľahlivosti; NS, nevýznamný; TTG-IgA, tkanivová transglutamináza - imunoglobulín-A. Upravené podľa Francavilla a kol., 2019

	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/m2	22.8±3.5	23.4±2.9	NS
TTG-IgA (IU/mL)*†	0.8 (0-1.2)	0.5 (0-2.1)	NS
IBS-SSS	295± 84.9 (95% CI, 26.9-32.0)	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)

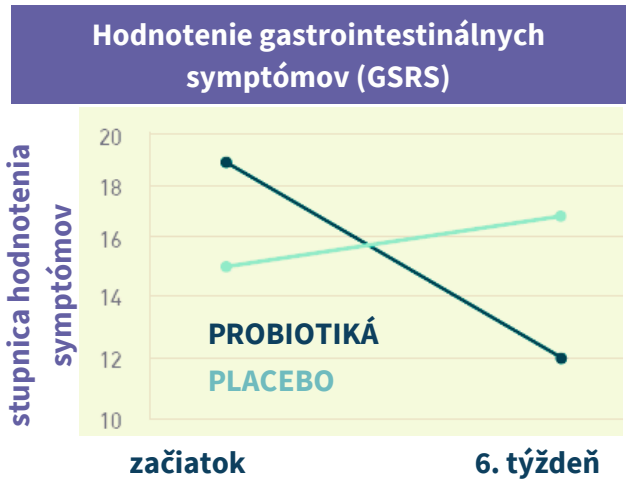
Závažnosť symptómov IBS podľa stupnice hodnotenia IBS-SSS v skupine s probiotikami sa významne znížila v porovnaní s placebom (-21,4%± 15,5% oproti -6,8%± 21,7%; p <0,01) (Obrázok 1) (1).



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 závažnosti gastrointestinálnych symptómov.*

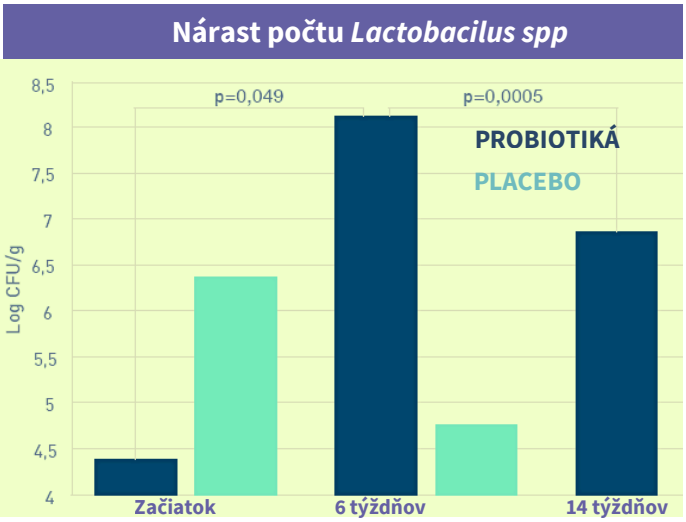
Na konci liečby sa skóre BSFS v skupine s probiotikami významne znížilo v porovnaní s placebom (-3,3 % ± 41,6 % vs. 51,5% ± 101,1 %; P < 0,01) (1).

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

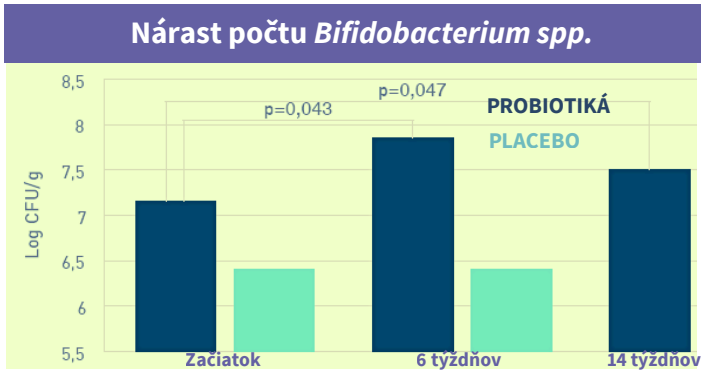
Tabuľka 2. *Klinické skóre na konci liečby ; CI, interval spoľahlivosti; NS, nevýznamný; ΔoZ zmena oproti začiatku, upravené podľa Francavilla a kol., 2019.*

(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).



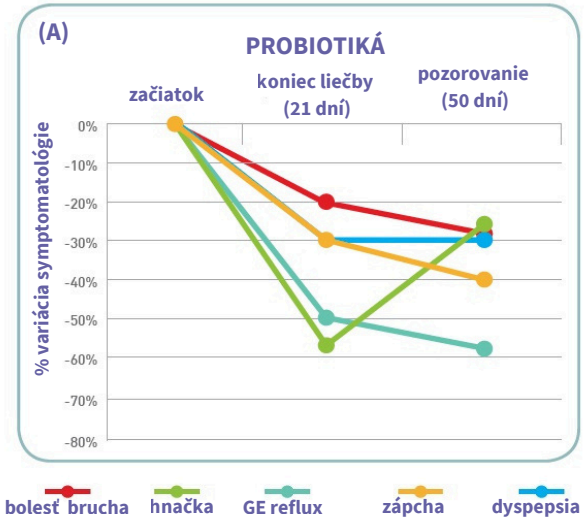
Obrázok 3. *Nárast počtu laktobacilov v skupine placebo vs. v skupine s probiotikami.*

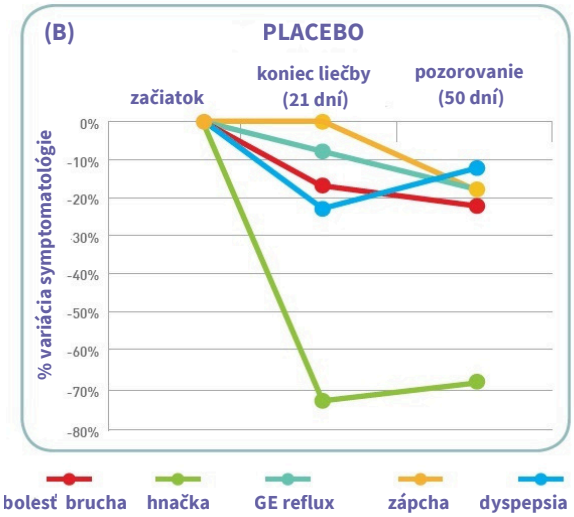


Obrázok 4. *Nárast počtu bifidobaktérií v skupine placebo vs. v skupine s probiotikami.*

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 cielenej kombinácie 5 probiotických baktérií hydrolyzovať gluténové peptidy po simulovanom gastrointestinálnom trávení gliadínu v bunkách Caco-2.

Hodnotila sa aj schopnosť bakteriálnych hydrolyzátov 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 cielenej kombinácie 5 probiotických baktérií tráviť gliadínové peptidy *in vitro* a modifikovať gliadínom indukovanú prozápalovú odpoveď a zmeny štruktúry epitelu v línií ľudských črevných buniek Caco-2 (2).

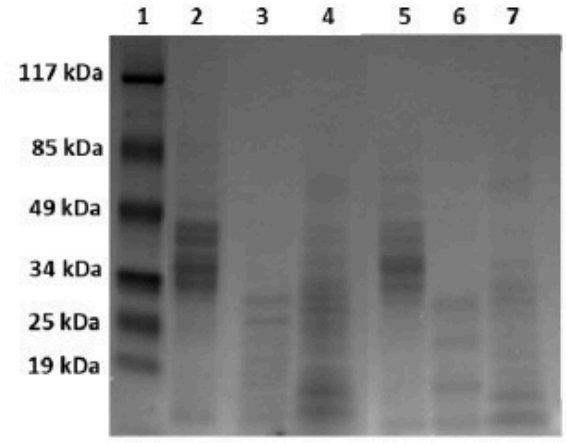
Metodika

In vitro štúdia 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 cielenej kombinácie 5 probiotických baktérií

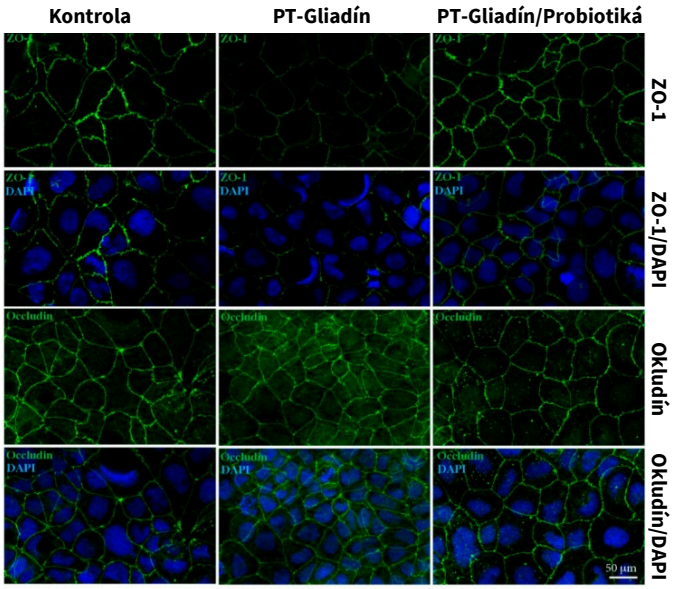
Výsledky **analýzy gliadínov** prostredníctvom **SDS-PAGE** naznačujú, že po prvom enzymatickom štiepení kombináciou pepsínu a trypsínu (PT, dráha 3) alebo samotným chymotrypsínom (chymo-, dráha 4) sú vybrané probiotické baktérie schopné ďalej štiepiť gliadín na fragmenty s molekulovou hmotnosťou menšou 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 aktivite 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) Gliadin 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 fluorescencie 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 antioxidačné a protizápalové aktivity a úlohu pri obnove črevnej bariéry.

Navyše, vybrané bakteriálne kmene sa zameriavajú priamo **na symptómy spojené s HIT**, **neprodukujú 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 micro-organisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides 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
- HIT
- GE reflux
- dyspepsia
- biodiverzita



HIT na Trávenie+ *obsahuje probiotické kmene cielene vybrané na základe vedeckých výskumov a klinických štúdií zameraných na sledovanie symptómov funkčných porúch trávenia, celiakie a HIT. (reklama)*

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.