

Funkční poruchy trávení a mikrobiom

Cílená kombinace 5 imunomodulačních probiotických kmenů a OMEGA-3 mastných kyselin

KLINICKÁ STUDIE

- 14týdenní
- paralelní
- randomizovaná
- dvojitě zaslepená
- placebem kontrolovaná
- na souboru 109 pacientů

Cílená kombinace 5 imunomodulačních probiotických kmenů a OMEGA-3 mastných kyselin

Probiotické bakteriální kmeny v této studii byly pečlivě vybrány na základě jejich vědecky prokázaných pozitivních účinků při zvládání symptomů funkčních poruch trávení.



V roce 2018 byla provedena klinická studie cílené kombinace 5 probiotických bakterií za účelem vyhodnocení účinku na zmírnění příznaků funkčních poruch trávení, zejména syndromu dráždivého tračníku (IBS). Výsledky ukázaly, že zkoumaná probiotická směs je účinná při zlepšování závažnosti symptomů typu IBS. Po 6 týdnech léčby byl zjištěn signifikantně vyšší podíl úspěšnosti léčby, snížení vnímání bolesti podle různých klinických škál a modifikace střevní mikrobioty, charakterizovaná nárůstem bifidobakterií, které byly stále detekovatelné 6 týdnů po vysazení probiotik.

KLINICKÁ STUDIE

Úvod

Funkční gastrointestinální poruchy (FGID), známé jako **poruchy osy střev-mozek**, se vyznačují výraznými změnami na úrovni profilu střevní mikrobioty, a to snížením biodiverzity, výrazným poklesem počtu bifidobakterií a laktobacilů, a rovněž nárůstem počtu potenciálně patogenních bakterií (1).

Vzniklá **dysbióza** často vede k narušení integrity střevního epitelu, k viscerální hypersenzitivitě a abnormalitám motility střev, čímž se zvyšuje **dysfunkce střevní bariéry**.

Do **FGID** patří mimo jiné **syndrom dráždivého tračníku (IBS)**, funkční dyspepsie (FD) či **spektrum symptomů** jako jsou bolesti/pálení břicha, nadýmání, nevolnost, pocit plnosti, zvracení a změněné návyky stolice, jako je průjem, zácpa nebo jejich kombinace.

Tato klinická studie odhalila, že **probiotická směs laktobacilů a bifidobakterií** je účinná při snižování závažnosti symptomů podobných IBS prostřednictvím modulace střevní mikrobioty, zejména zvýšením počtu bifidobakterií a laktobacilů. Závažnost symptomů IBS podle vybraných hodnotících škál se významně snížila ve skupině s probiotiky ve srovnání se skupinou s placebem, stejně jako ve srovnání s počátkem a koncem klinické studie.

Cíle

Primárním cílem klinické studie bylo vyhodnotit účinnost a bezpečnost probiotické směsi u pacientů s příznaky **syndromu dráždivého tračníku**.

Metodika

Pacienti s příznaky typu IBS se zapojili do prospektivní, dvojité zaslepené, randomizované, placebem kontrolované čtrnáctitýdenní studie.

Šestitýdennímu léčebnému období (3. – 8. týden) předcházela dvoutýdenní adaptační fáze a následovala šestitýdenní observační fáze.

Klinické údaje byly během celé studie monitorovány pomocí ověřených dotazníků: **Systém hodnocení závažnosti IBS (IBS-SSS)**; **Škála hodnocení gastrointestinálních symptomů (GSRS)** a **Bristolská škála stolice (BSFS)**. Fekální mikrobiota byla testována pomocí kultivace a 16S rRNA sekvenční analýzy (1).

Tabulka 1. Základní charakteristika účastníků studie

*Medián (rozsah)

†Normální hodnota TTG-IgA <10 IU/ml

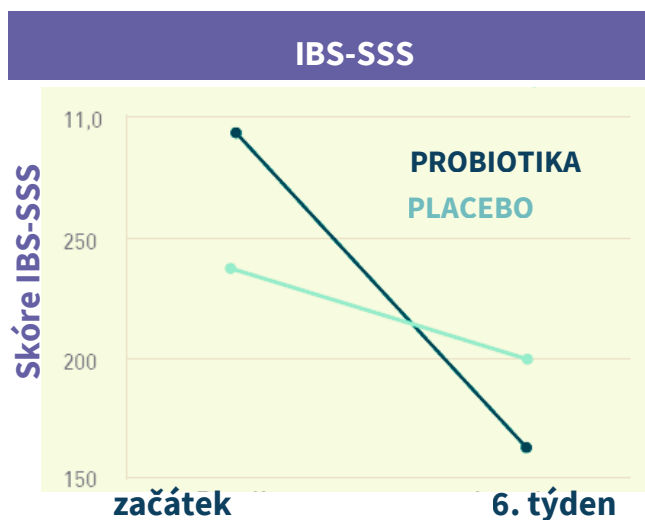
BMI, index tělesné hmotnosti; CI, interval spolehlivosti; NS, nevýznamné; TTG-IgA, tkáňová transglutamináza – imunoglobulin A. Upraveno podle Francavilla et al., 2019

	Probiotikum (n = 54)	Placebo (n = 55)	P
Věk	43.3± 19	44.6± 19	NS
Pohlaví (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 hodnocení závažnosti IBS (IBS-SSS)

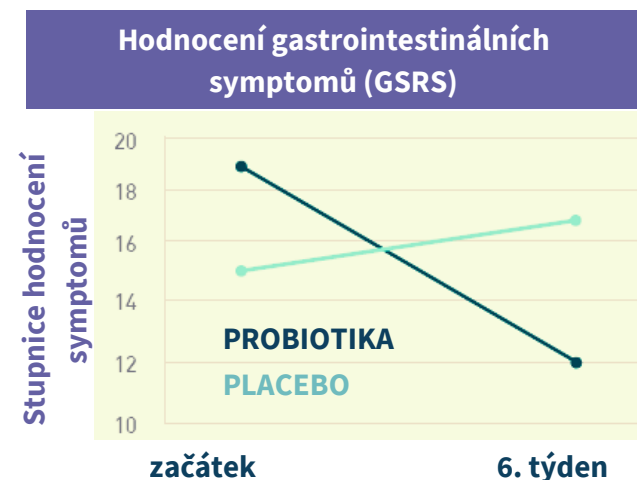
Závažnost příznaků IBS podle stupnice IBS-SSS se ve skupině s probiotiky významně snížila ve srovnání s placebem ($-21,4 \% \pm 15,5 \%$ oproti $-6,8 \% \pm 21,7 \%$; $p < 0,01$) (Obrázek 1) (1).



Obrázek 1. Vyhodnocení závažnosti symptomů IBS.

2) Stupnice hodnocení gastrointestinálních symptomů (GSRS) a formy stolice Bristol (BSFS)

Závažnost symptomů IBS podle stupnice GSRS se ve skupině s probiotiky významně snížila ve srovnání s placebem ($-19,8 \% \pm 16,6 \%$ vs. $12,9 \% \pm 31,6 \%$; $p < 0,001$) (Obrázek 2) (Tabulka 2).



Obrázek 2. Vyhodnocení závažnosti gastrointestinálních symptomů.

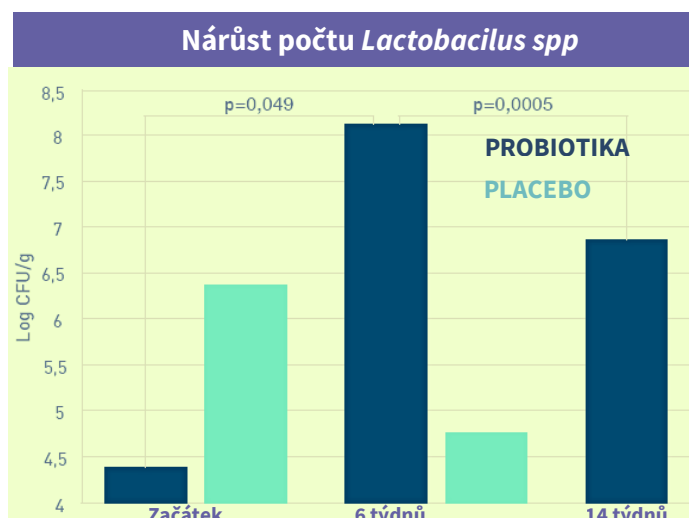
Na konci léčby se skóre BSFS ve skupině s probiotiky významně snížilo ve srovnání s placebem ($-3,3 \% \pm 41,6 \%$ vs. $51,5 \% \pm 101,1 \%$; $P < 0,01$) (1).

Klinické skóre	Probiotika (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

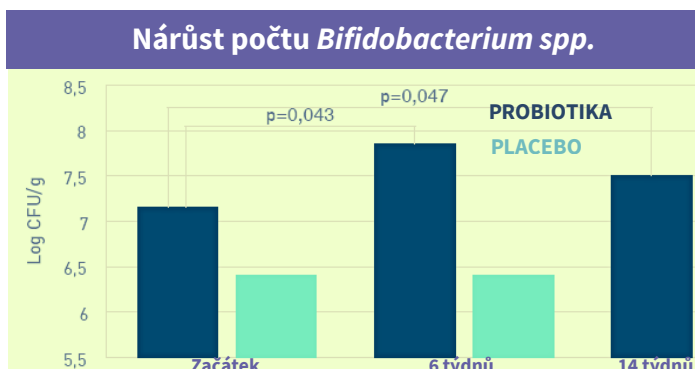
Tabulka 2. Klinické skóre na konci léčby; CI, interval spolehlivosti; NS, nevýznamné; ΔoZ, změna oproti začátku, upraveno podle Francavilla a kol., 2019.

(3) Vyhodnocení fekálně kultivovatelných bakterií a mikrobiomu

Ve srovnání s výchozí hodnotou se celkové počty anaerobů zvýšily ze 7,02 na 8,35 log CFU/g (medián, $P=0,018$) po 6 týdnech léčby probiotiky. Léčba probiotiky vede také ke zvýšení předpokládaných bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* a *Bifidobacterium*) (Obrázek 3). Ve srovnání s výchozí hodnotou byla po 6 týdnech léčby probiotiky zaznamenána také vyšší hladina předpokládaných bifidobakterií (Obrázek 4).



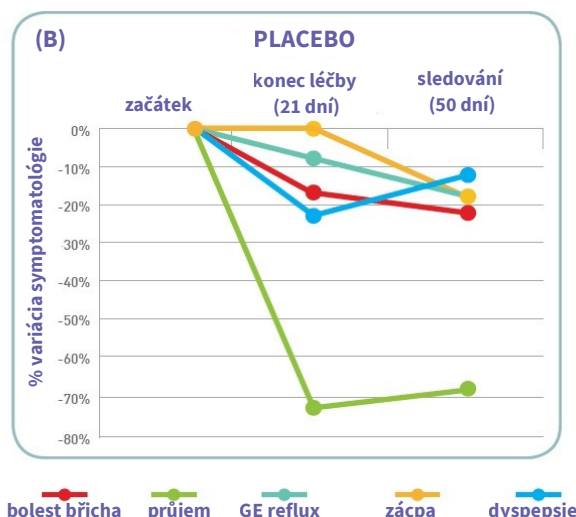
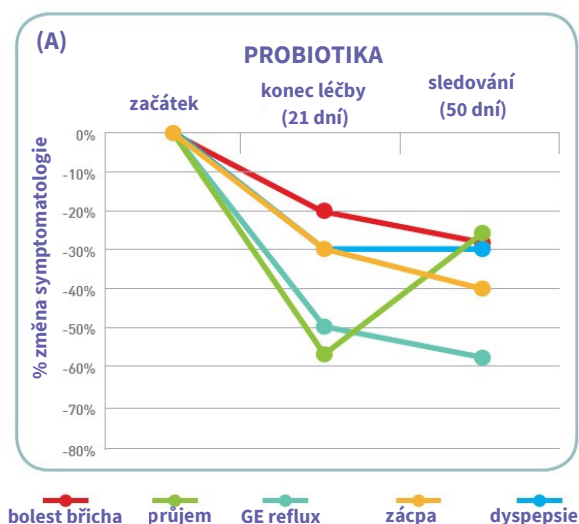
Obrázek 3. Nárůst počtu laktobacilů ve skupině s placebem vs. ve skupině s probiotiky.



Obrázek 4. Nárůst počtu bifidobakterií ve skupině placebo vs. ve skupině s probiotiky.

Úspěšnost léčby

Úspěšnost léčby byla signifikantně vyšší u pacientů užívajících probiotika ve srovnání s placebem při analýze záměru léčby (14,8 % oproti 3,6 %; $p < 0,04$) i podle protokolu (15,3 % oproti 3,8 %; $p < 0,04$) (Obrázek 5 A a B) (1).



Obrázek 5. Vyhodnocení změn symptomatologie ve skupině s probiotiky (A) a ve skupině s placebem (B).

IN-VITRO STUDIE

Celiakie je autoimunitní enteropatie způsobená nesnášenlivostí k glutenovým proteinům. In vitro studie z roku 2020 se zaměřila na vyhodnocení schopnosti cílené kombinace 5 probiotických bakterií hydrolyzovat glutenové peptidy po simulovaném gastrointestinálním trávení gliadinu v buňkách Caco-2.

Hodnotila se také schopnost bakteriálních hydrolyzátů působit proti toxickým účinkům peptidů odvozených od gliadinu v buňkách Caco-2. Výsledky této studie naznačují, že tyto probiotické kmeny jsou schopné snížit toxicitu gliadinu, který přetrvává po pepticko-tryptickém štěpení, degradací imunodominantních gliadinových peptidů. Tímto inhibují jejich škodlivé účinky na střevní epitelové buňky a mohou mít ochrannou roli při celiakii.

Cíle

Primárním cílem bylo zhodnotit schopnost cílené kombinace 5 probiotických bakterií trávit gliadinové peptidy in vitro a modifikovat gliadinem indukovanou prozánětlivou odpověď a změny struktury epitelu v linii lidských střevních buněk Caco-2 (2).

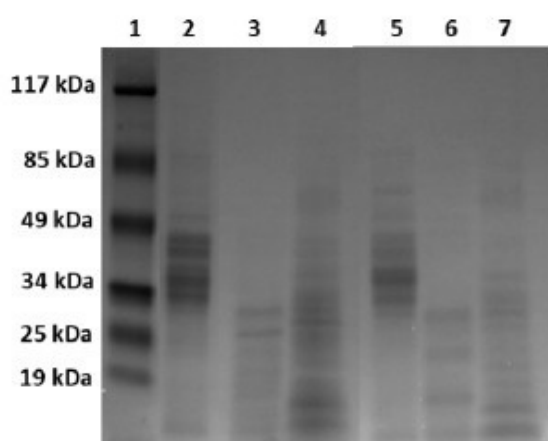
Metodika

In vitro studie sledovala proteolytickou aktivitu vybraných probiotických kmenů v alikváttech s komplexem gliadin/enzym (PT-gliadin, P: pepsin, T: trypsin nebo chymotrypsin w/w, poměr 1:40) a také se surovým gliadinem ve srovnání s kontrolní vzorkou bez probiotických bakterií (2).

Výsledky

1) Proteolytická aktivita cílené kombinace 5 probiotických bakterií

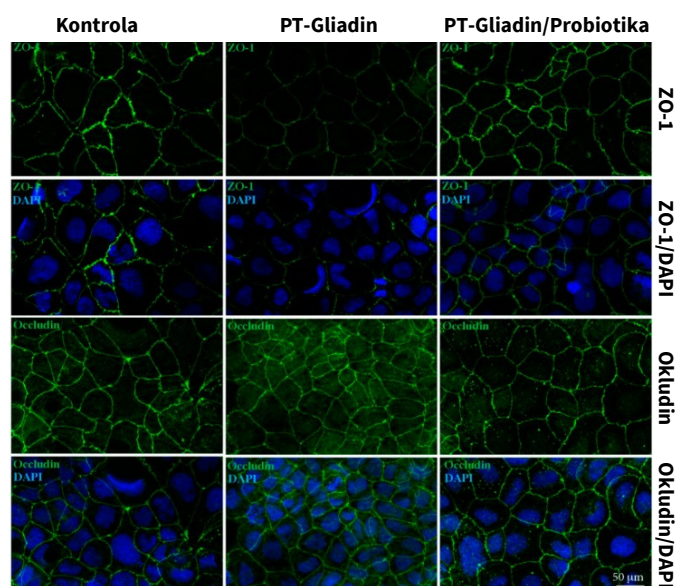
Výsledky **analýzy gliadinu** pomocí **SDS-PAGE** naznačují, že po prvním enzymatickém štěpení kombinací pepsinu a trypsinu (PT, dráha 3) nebo samotným chymotrypsinem (chymo-, dráha 4) jsou vybrané probiotické bakterie schopné dále štěpit gliadin na fragmenty s molekulovou hmotností menší než 35 kDa (dráha 6,7). Navíc se zdá, že gliadin neošetřený trávicími enzymy (dráha 2) je částečně tráven bakteriemi (dráha 5), což svědčí o jejich proteolytické aktivitě i bez předchozího natrávení (Obrázek 6). Výsledky tedy naznačují, že probiotika mohou pomoci s trávením gliadinu (2).



Obrázek 6. Analýza gliadinů elektroforézou na polyakrylamidovém gelu s dodecylsulfátem sodným (SDS-PAGE). (1) Markery molekulové hmotnosti (MW); (2) Standard gliadinu; (3) PT-gliadin; (4) Chymo-gliadin; (5) Gliadin + bakterie; (6) PT-gliadin + bakterie; (7) Chymo-gliadin + bakterie. Upraveno podle Giorgi et al., 2020.

2) Účinek PT-gliadinu a PT-gliadin/probiotika na těsné spoje Caco-2

Výsledky ukazují, že neošetřené monovrstvy Caco-2 měly typickou lokalizaci ZO-1 a okludinu na buněčné periferii (3), zatímco ošetření PT-gliadinem po dobu 3 hodin indukovalo výrazné snížení fluorescence ZO-1 a redistribuci okludinu do cytosolu, což může vést k oslabení těsných spojů bariéry a zvýšení její propustnosti. Když byly buňky ošetřeny PT-gliadinem/probiotiky, uvolňování ZO-1 ani redistribuce okludinu nebyly pozorovány, což naznačuje schopnost probiotik chránit těsné spoje (Obrázek 7).



Obrázek 7. Buňky Caco-2 zbarvené pro detekci zonulinu (ZO-1) nebo okludinu. Buňky byly ošetřeny 1 mg/ml PT-gliadinu nebo PT-gliadinem/probiotiky a po 3 hodinách ošetření byly fixovány a zbarveny protilátkami proti ZO-1 nebo okludinu a 4',6-diamidino-2-fenylindolem (DAPI) pro kontrastní zobrazení jader. Upraveno podle Giorgi et al., 2020.

3) Modulace produkce IL-6 a oxidačního stresu buňkami Caco-2 vystavenými PT-gliadinu trávenému nebo netrávenému bakteriemi

PT-gliadin byl schopen vyvolat významné zvýšení produkce IL-6 ve srovnání s kontrolou. V přítomnosti PT-gliadinu/probiotik nebylo možné pozorovat žádné zvýšení IL-6, naopak došlo k významnému snížení produkce IL-6 ve srovnání s kontrolními buňkami, což naznačuje protizánětlivý ochranný účinek probiotik (2).

OMEGA-3 PUFA A ZVÝŠENÍ ÚČINNOSTI PROBIOTIK

Kombinace probiotik se synergicky působícími složkami přírodního původu je vhodným způsobem, **jak zvýšit účinnost probiotických přípravků**. Zdá se, že k potencování účinku probiotik lze využít řadu vhodných komponent, například **polynenasycené mastné kyseliny (PUFA)**. Jejich přítomnost podporuje adhezi probiotických bakterií (např. *Lactobacillus* spp.) na receptory střevní sliznice (4).

Omega-3 PUFA mohou mít pozitivní účinek tím, že při těchto onemocněních mění složení mikrobioty a zvyšují produkci protizánětlivých sloučenin, jako jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem (acetát, propionát, butyrát). Kromě toho hromadí se důkazy ze studií na zvířecích modelech naznačují, že souhra mezi střevní mikrobiotou, Omega-3 mastnými kyselinami a imunitou pomáhá udržovat integritu střevní stěny a interaguje s imunitními buňkami hostitele. Nakonec studie na lidech i zvířatech zdůraznily schopnost Omega-3 PUFA ovlivňovat osu střeva-mozek prostřednictvím složení střevní mikrobioty (5).

Závěr

Současný výzkum naznačuje, že závažnost symptomů funkčních poruch trávení, především IBS, lze zmírnit suplementací probiotické směsi laktobacilů a bifidobakterií, a to modifikací střevní mikrobioty a nápravou dysbiózy.

Výsledky klinické i *in vitro* studie naznačují, že vybrané kmeny laktobacilů a bifidobakterií jsou vhodné pro pacienty s funkčními poruchami trávení, jako je IBS, stejně jako pro celiaky, vzhledem k jejich antioxidačním a protizánětlivým aktivitám a roli při obnově střevní bariéry.

Navíc se vybrané bakteriální kmeny zaměřují přímo **na symptomy spojené s HIT, neprodukují histamin**, a tak jsou vhodné i pro lidi s histaminovou

intolerancí (HIT).

Účinek cíleně vybraných 5 probiotických kmenů bakterií lze posílit synergicky působícími polynenasycenými mastnými kyselinami (PUFA) Omega-3 EPA a Omega-3 DHA, které podporují tvorbu protizánětlivých látek a napomáhají probiotickým bakteriím uchytit se na střevní sliznici.

Reference

- (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.

Cílená probiotika

Přinášejí pozitivní výsledky ve studiích při:

- + funkční poruchy trávení
- + celiakie
- + HIT
- + GE reflux
- + dyspepsie
- + biodiverzita



HIT na Trávení+®

obsahuje probiotické kmeny cíleně vybrané na základě vědeckých výzkumů a klinických studií, zaměřených na sledování symptomů funkčních poruch trávení, celiakie a histaminové intolerance (HIT).

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