

Svijet mikroorganizama unutar naših tijela

Lucija Konosić

Ove se godine obilježava stota obljetnica smrti ruskog mikrobiologa i zoologa Ilye Mechnikova, dobitnika Nobelove nagrade za fiziologiju i medicinu 1908. godine, a neke su od njegovih ideja ponovno u centru pozornosti znanstvenika diljem svijeta. Naime, njegova teorija o tome da bi bakterije kakve nalazimo u jogurtu mogle izmijeniti floru probavnog sustava i tako imati dugoročne pozitivne učinke na zdravlje i čak odgoditi pojavu senilnosti, dobiva sve više potvrda u okviru suvremene znanosti. Ova staro-nova otkrića otvorila su vrata eri probiotika te predstavljaju velik potencijal za razvoj terapijskih postupaka za bolesti koje su do sada predstavljale nepremostive prepreke modernoj medicini.

Naše bakterije – u brojkama

Mikrobiotom gastrointestinalnog sustava nazivamo sve mikroorganizme koji koloniziraju probavne organe, uključujući bakterije, viruse, gljive, parazite i archaeu. Ova je skupina mikroorganizama sastavljena od 500 do 1000 vrsta, a njezin je sastav specifičan za svaku osobu te bi se mogla smatrati zasebnim ekosistemom unutar ljudskog organizma. Najvažniji čimbenici koji na nju utječu su genom, prehrana, eventualna bolest domaćina, antibiotici koje uzima te okoliš u kojem se nalazi. Fetalni je probavni sustav sterilan sve do porođaja, tijekom i nakon kojega dolazi do kolonizacije, a odabir vrsta koje će tvoriti mikrobiotu novorođenčeta ovisi čak i o tome je li ono rođeno vaginalnim porođajem ili putem carskog reza. Dokazano je da djeca rođena carskim rezom upravo zbog te razlike kasnije u životu pokazuju veću prevalenciju pretilosti i povećanu sklonost alergijama. Dojenje je sljedeći važan čimbenik koji utječe na raznolikost mikrobiote, a uvođenje čvrste hrane u djetetovu prehranu rezultira stvaranjem flore sličnije onoj u odraslih te se relativno stabilan odabir vrsta uspostavlja u dobi od 2-3 godine. Nakon toga se mikrobiota obično znatno ne mijenja do starosti, kada ponovno postaje podložnija

promjenama, ponajviše uzrokovanim pobolijevanju od kroničnih bolesti. Ove nam faze razvoja i mogućih promjena sastava flore probavnog sustava možda ne govore o njezinoj varijabilnosti koliko otkriće da bogatstvo genske raznolikosti te skupine mikroorganizama iznosi čak 3.3 milijuna gena, odnosno oko 100 puta više gena od onih koji tvore humani genom. To je saznanje rezultat projekta izrade kataloga genoma koji sadrži mikrobiota, nazvanog mikrobiom, objavljenog 2010. godine.

Neuobičajena transplantacija

Mikroorganizmi koji koloniziraju probavni sustav mogu biti komenzali, biti u simbiozi s domaćinom ili djelovati kao patogeni. Neke od njihovih poznatih funkcija jesu stvaranje biološke barijere koja sprječava djelovanje vanjskih toksina te modulacija imunološkog sustava, a sudjeluju i u probavnim funkcijama. Stoga ne čudi da se promjene u sastavu mikrobiote povezuju s brojnim metaboličkim i bolestima probavnog sustava, ali i nekim autoimunim bolestima, sklonostima alergijama te čak i neuropsihijatrijskim poremećajima. Potencijalno rješenje za takva stanja predstavlja tehnika transplantacije fekalne mikrobiote (FMT) s ciljem obnavljanja fizioloških udjela pojedinih mikroorganizama u flori bolesnika, koncept koji je još prije 1700 godina bio poznat u kineskoj medicini kao metoda liječenja teških proljeva te posljedica trovanja hranom. Danas se ova procedura provodi tako da se tekući fekalni filtrat dobiven od zdravog donora unosi u organizam pacijenta putem nazogastrične ili nazoduodenalne sonde, tijekom kolonoskopije, putem klizme ili u obliku kapsula. FMT se razlikuje od standardnih probiotika time što ne mijenja floru bolesnika koristeći mikroorganizme povezane s fermentacijom, već koristi organiziranu zajednicu iz zdravog pojedinca. Uzimajući u obzir potencijalne nuspojave ovakve metode, osobito prijenos patogena, pripreme za postupak uključuju opsežne metode probira donora te testiranja dobivenih uzoraka. Donori

mogu biti članovi obitelji ili nesrodni dobrovoljci, pri čemu se prednost daje rođacima po majčinoj liniji zbog potencijalne veće sličnosti sastava flore probavnog sustava što bi moglo dovesti do veće tolerancije imunskog sustava prema pripravku, a probir uključuje serološka testiranja te upitnike slične onima koji se koriste kod dobrovoljnog darivanja krvi uz posebnu pozornost posvećenu anamnezi dosadašnjih bolesti koje bi mogle biti vezane uz crijevnu floru. Iako se često koristi u pacijenata značajno narušena zdravlja, uz dobro obavljenu pripremu ova metoda može biti vrlo sigurna i dobro tolerirana. Neke od češćih nuspojava uključuju nelagodu, nadutost, proljev, konstipaciju, povraćanje ili vrućicu, no ti su simptomi samoograničavajući i povlače se nakon najviše 2 dana, dok o dugoročnim posljedicama poput latentnih infekcija i izazivanja bolesti koje bi etiološki mogle biti povezane s promjenama sastava mikrobiote još nema dovoljno informacija.

Od klostridija do multiple skleroze

Danas je FMT najpopularniji u liječenju rekurentnih i na terapiju refraktornih infekcija bakterijom *Clostridium difficile* (CDI) koja može uzrokovati široki raspon stanja, od blagih vodenastih proljeva do potencijalno životno ugrožavajućeg pseudomembranoznog kolitisa. Standardno se za liječenje ove infekcije koriste antibiotici vankomicin ili metronidazol, no česti su slučajevi razvoja rekurentne infekcije (rCDI) sa znatno težim simptomima i većim mortalitetom. Studije su pokazale da terapija transplantacijom mikrobiote rezultira izlječenjem rCDI u čak 90% slučajeva, od čega je kod 70% pacijenata dovoljan samo jedan tretman, u usporedbi s 31% izliječenih pri standardnoj oralnoj terapiji vankomicinom. Mehanizmi kojima ova metoda djeluje na *C. difficile* još nisu u potpunosti definirani, no teorije govore o mogućoj kompeticiji novonastale flore s patogenom i posljedičnim manjkom nutrijenata za razvoj klostridija, zatim o promjeni metabolizma žučnih soli koje su

važan faktor za germinaciju spora bakterije i o promjeni metabolizma sijalinske kiseline koja je za nju važan izvor energije. Druga važna indikacija za FMT su upalne bolesti crijeva, ulcerativni kolitis i Crohnova bolest, koje su karakterizirane kroničnom upalom probavnog sustava te ciklusima egzacerbacija i remisija. Iako je etiologija ovih bolesti nepoznata, promjene u crijevnoj flori smatraju se važnim čimbenikom koji doprinosi njihovoj patogenezi, a tu teoriju podupire i činjenica da korištenje antibiotika smanjuje upalu crijevne sluznice te može inducirati remisiju. Na mikrobioti oboljelih provedene su metagenomske studije koje promatraju zajednički genetički mikrobiološki materijal dobiven iz prirodnih uzoraka. Dokazano je da mikrobiota karakteristična za ove bolesti pokazuje smanjenu raznolikost vrsta i proupalnu aktivnost. Do danas dostupne studije ukazuju na djelotvornost terapije s postizanjem remisije u 22% svih pacijenata s ulceroznim kolitisom, s naglaskom na uspješnost od čak 64% u mlađih pacijenata, te u 60% oboljelih od Crohnove bolesti. Manja stopa izlječenja u odnosu na one pri terapiji infekcije *C. difficile* vjerojatno je posljedica multifaktorijalne podloge ovih bolesti. Osim spomenutih, postoje indikacije o povezanosti brojnih neuroloških bolesti poput multiple skleroze ili Parkinsonove bolesti i nekih psihijatrijskih stanja s neskladom u crijevnoj mikrobioti. Također se raspravlja o mogućoj ulozi tih mikroorganizama kao rizičnih čimbenika za kardiovaskularne bolesti, što je dovelo do razmatranja korištenja FMT-a u njihovoj prevenciji i liječenju.

Dijeta bakterijama?

Dugoročno je praćenje pacijenata podvrgnutih FMT-u pokazalo i neke neočekivane učinke koji znatno šire raspon indikacija za koje bi ova metoda mogla koristiti. Studije opisuju slučajeve poput onoga pacijentice koja je bila podvrgnuta FMT-u zbog rekurentne *C. difficile* infekcije otporne na antibiotike. Njena je tjelesna težina unutar 36 mjeseci od tretmana porasla za čak 19 kilograma, i to bez promjene stila života i prehrane te s nepromijenjenim razinama kortizola i hormona štitnjače koji bi takvu promjenu mogli

objasniti. Pacijentica je prije zahvata imala stabilnu tjelesnu težinu, a kao donora je izabrala svoju kćer, koja je kasnije također pokazala sklonost debljanju. Daljnje je praćenje pokazalo da tjelesnu težinu nije mogla smanjiti unatoč pridržavanju propisanoj dijeti i programu vježbanja. Ovaj i slični slučajevi rezultirali su stvaranjem brojnih teorija o utjecajima mikrobiote na tjelesnu težinu neovisnima o prehrani ili količini tjelesne aktivnosti, zbog čega su počela opsežna istraživanja mogućnosti korištenja FMT-a i u liječenju pretilosti, vodećeg svjetskog zdravstvenog problema. Otkriveno je da je najvažnija razlika u mikrobioti pretilih pacijenata u odnosu na one koji ne pokazuju sklonost debljanju promijenjeni odnos dviju najzastupljenijih skupina bakterija, s povećanjem udjela predstavnika koljena Firmicutes, koji djeluju proinflamatorno i potiču nastanak pretilosti, i smanjenjem broja predstavnika koljena Bacteroidetes, koji štite od takvih učinaka. Takav sastav flore pokazuje povećani kapacitet za iskorištavanje energije iz unesene hrane i utjecajem na mozak, regulira iskorištavanje energije i osjećaj sitosti, djelujući poput posebnog endokrinog organa. Osim toga, čimbenici upale poput *TNF- α* , povišeni zbog proupalnog djelovanja nekih bakterija, doprinose inzulinskoj rezistenciji, što bi moglo tvoriti podlogu za razvoj tipa II šećerne bolesti. Otkrivena je i povezanost mikrobiote s rizikom za kardiovaskularne bolesti, objašnjena promjenama metabolizma kolina i L-karnitina, prekursora trimetilamin-N-oksida koji ima pozitivni učinak na nastanak i propagaciju ateroskleroze. Usljedile su brojne studije koje su pokazale da kolonizacija mišjeg probavnog trakta uzorkom mikrobiote dobivene iz pretile osobe rezultira daleko većom sklonošću miša prema debljanju nego kolonizacija mikrobiotom osoba uredne tjelesne težine. Razmjer debljanja bio je manji u miševa koji su dobili uzorke s većom genskom raznolikošću mikroorganizama. Sličan pokus, ali s uzorcima dobivenim od sestara blizanki od kojih je jedna bila pretiła, pokazao je da je tjelesna težina miša u kojega je presađena njezina mikrobiota porasla znatnije unatoč jednakom režimu prehrane obaju miševa. Ovi su i slični rezultati ukazali na važnost razma-

tranja indeksa tjelesne težine pri odabiru donora za FMT, ali i nagovijestili kako bi ta metoda, suprotnim djelovanjem onomu u opisanu slučaju FMT-a između majke i kćeri, mogla postati vrlo učinkovit prirodni lijek protiv pretilosti, bolesti za koju, unatoč sve boljem poznavanju njezine patofiziologije, još uvijek često nemamo učinkovitu terapiju.

Izniman potencijal

Potrebno je odgovoriti na brojna otvorena pitanja o mehanizmima djelovanja FMT-a i mogućim indikacijama, kao i usavršiti procedure koje bi osigurale najveću moguću uspješnost ove metode, no jasno je da se radi o moćnom prirodnom lijeku koji bi mogao otkloniti brojne prepreke koje su do sada stajale na putu liječenja teških i čestih bolesti. Stigma koju bi ovakav nekonvencionalan koncept mogao imati mogla bi biti jedna od prepreka popularizaciji ove terapije, no njezin bi potencijal, zajedno sa senzibilizacijom svijesti javnosti, trebao biti dovoljan za njezino skoro uvođenje u brojne algoritme liječenja. Taj potencijal prepoznala je i američka mornarica koja svojim pokroviteljstvom podupire istraživanje i razvoj sintetskih probiotika koji bi marince u nepovoljnim uvjetima štitili od cijelog raspona bolesti, od metaboličkih pa sve do anksioznosti i depresije. Takav pobuđeni interes svjetske znanstvene zajednice jamči da nova otkrića nećemo dugo čekati.

HIV i mikrobiota

Razmišljajući o načinima prijenosa i krvnim nalazima koji se uzimaju u obzir pri dijagnostici i liječenju HIV-a, lako je izgubiti iz vida kompleksni odnos te bolesti s drugim organskim sustavima. Naime, infekcija HIV-om smanjuje raznolikost mikrobiote i njezine funkcije, posebice njezinu važnost u stvaranju barijere koja sprječava prolazak patogena kroz sluznicu gastrointestinalnog sustava, te potiče njezine moguće negativne učinke. To je rezultiralo idejama o mogućem korištenju FMT-a kao terapije i za ovu bolest. Teorije koje tome govore u prilog zasnovane su na činjenici da bi moduliranje aktivnosti crijevne flore kao barijere moglo smanjiti razmjer početne upale koja podržava HIV infekciju. Jačanje imunskog odgovora

moglo bi poboljšati inače slabu učinkovitost cijepljenja u pacijenata s HIV-om te smanjiti njihovu podložnost oportunističkim infekcijama. Potencijalni problem predstavlja slabiji razvoj transplantiranih mikroorganizama u osoba koje, za razliku od inficiranih s *C. difficile*, još nisu primale antibiotike koji bi smanjili kompeticiju dvaju sastava mikrobiote, no i taj bi problem trebao biti riješen pripremom pacijenata antibioticima prije samog tretmana, sličnim mehanizmom kojim zračenje i ke-

moterapija pripremaju pacijente kojima je potrebna transplantacija koštane srži.

Pušenje i mikrobiota

Debljanje nakon prestanka pušenja popularan je argument među pušačima koji još nisu spremni prekinuti tu svoju naviku ili onih koji su joj se vratili nakon prestanka. Poznato je da vanjski faktori mogu utjecati na promjene crijevne mikrobiote, a istraživanja su uspješno okarakterizirala točno koje se promjene u njoj dogode na-

kon prestanka pušenja. Povećanje udjela koljena bakterija koje podržavaju nastanak pretilosti i djeluju proinflammatorno moglo bi objasniti zašto tjelesna težina kod 80% bivših pušača poraste za 7-8 kilograma, čak i uz održan ili smanjen unos kalorija. Ova bi se saznanja mogla koristiti i u razjašnjavanju utjecaja pušenja na tijek upalnih bolesti crijeva, odnosno zašto ono ima negativan učinak na oboljele od Crohnove bolesti, a kod pacijenata s ulceroznim kolitisom pokazuje protektivno djelovanje.

LITERATURA

1. Choi HH, Cho YS. Fecal Microbiota Transplantation: Current Applications, Effectiveness, and Future Perspectives. *Clin Endosc* 2016;49(3):257-65
2. Dugas LR, Fuller M, Gilbert J et al. The obese gut microbiome across the epidemiologic transition. *Emerg Themes Epidemiol*. 2016;13(2).
3. Gupta S, Allen-Vercoe E, Petrof EO. Fecal microbiota transplantation: in perspective. *Therap Adv Gastroenterol*.2016;9(2):229-39.
4. Jayasinghe TN, Chiavaroli V, Holland DJ et al. The New Era of Treatment for Obesity and Metabolic Disorders: Evidence and Expectations for Gut Microbiome Transplantation. *Front Cell Infect Microbiol*.2016;6:15.
5. Moreno-Indias I, Cardona F, Tinahones FJ et al. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Front Microbiol*.2014;5:190.