

Rok Orel^{1*}, Anija Orel^{2*}

Znanstveno-strokovni pogled na probiotike: sedanost in bližnja prihodnost

A Scientific-Expert View on Probiotics: The Present and The Near Future

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: mikrobiota, probiotiki, učinkovitost, varnost

Spremembe v sestavi črevesne mikrobiote, ki porušijo simbiotično razmerje med njo in gostiteljem ter jih s skupnim imenom imenujemo disbioza, predstavljajo pomemben dejavnik tveganja za pojav številnih ne le črevesnih, ampak tudi sistemskih bolezni. Prispevek obravnava osnovne mehanizme delovanja probiotikov in področja njihove uporabe, predvsem pa metode, na katerih temelji izbor ustreznega probiotika za specifičen namen uporabe. Pri tem je osvetljen tako vidik učinkovitosti kot varnosti probiotikov.

ABSTRACT

KEY WORDS: microbiota, probiotics, efficacy, safety

Changes in the composition of the gut microbiota, which disrupt the symbiotic relationship between it and the host, collectively referred to as dysbiosis, represent an important risk factor for many diseases, not only intestinal but also systemic. The paper deals with the probiotics' basic mechanisms of action, the scope of their application, and in particular the methods on which the selection of the appropriate specific probiotic for a specific purpose of use is based. Both the efficacy and safety aspects of probiotics are highlighted.

* Avtorja si delita prvo avtorstvo

¹ Prof. dr. Rok Orel, dr. med., Klinični oddelek za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana; Katedra za pediatrijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana; rok.orel@kclj.si

² Asist. dr. Anija Orel, mag. inž. preh., Klinični oddelek za gastroenterologijo, hepatologijo in nutricionistiko, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana

UVOD

V zadnjih dveh desetletjih so od gojenja mikrobioloških kultur neodvisne molekularnogenetske analitične metode omogočile dokaj natančen vpogled v sestavo mikrobnе združbe v človeških prebavilih. Rezultati velikih mednarodnih projektov, kot sta bila MetaHIT in projekt Človeški mikrobiom (angl. *Human microbiome project*), so pokazali, da v človeških prebavilih prebiva več kot 2.000 različnih vrst mikrobov, ki so jih razvrstili v 12 različnih debel (1, 2). Med njimi več kot 90 % bakterijskih vrst pripada štirim deblom: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* in *Bacteroidetes*. Poenostavljeno shemo glavnih debel in najbolj znanih skupin bakterij, ki jim pripadajo, prikazuje tabela 1 (3).

Sestava črevesne mikrobiote se med ljudmi zelo razlikuje. Čeprav je v obdobju od zaključka primarne kolonizacije, ki zajema prvih nekaj let življenja, do starostniškega obdobja, ko se spet začne pomembnejše spreminjati, večinoma dokaj stabilna, lahko manjše in večje spremembe opazujemo tudi dnevno. Na sestavo in aktivnost črevesnih bakterij namreč vplivajo številni zunanji dejavniki, kot so vrsta prehrane, zdravstveno stanje posameznika, zdravila itd. Ravno zaradi velike raznolikosti še danes težko opredelimo, kakšna je normalna zdrava mikrobiota. Kljub temu je znano, da spremembe v sestavi, ki porušijo simbiotično razmerje med mikrobioto ter gostiteljem (s skupnim imenom jih imenujemo disbioza), predstavljajo pomemben dejavnik tve-

ganja za pojav številnih bolezni. Te niso le črevesne, ampak tudi sistemske (npr. presnovni sindrom, ateroskleroza, rak, alergijske in avtoimune bolezni, nevrološke in duševne bolezni itd.) (4).

Da bi lahko vsaj na načelni ravni razumeli vplive črevesne mikrobiote na delovanje in zdravje človeškega organizma, moramo opisati njune medsebojne vplive. Črevesna mikrobiota s svojim naborom encimov predstavlja največji presnovni »organ« v človeškem telesu. Črevesni mikroorganizmi za svojo presnovo uporabljajo predvsem ostanke hrane, ki je človeški prebavni encimi ne morejo razgraditi do enostavnih molekul, ki bi se lahko absorbirale preko črevesne sluznice. Pri bakterijski presnovi nastajajo številni presnovki, ki jih človeški organizem lahko porablja kot vir energije, učinkujejo pa lahko tudi kot bioaktivne molekule, saj spodbujajo različne fiziološke reakcije. Poleg tega mikroorganizmi stopajo v neposredni stik z različnimi celicami organizma (npr. celicami črevesne povrhnjice in različnimi celicami imunskega in živčnega sistema). Pri tem igrajo ključno vlogo receptorji za prepoznavo molekularnih vzorcev (angl. *pattern recognition receptors*, PRR), ki se nahajajo na površinskih membranah in v citoplazmi večine človeških celic ter prepoznavajo različne molekule, ki sestavljajo mikroorganizme. V manjši meri so pomembni tudi specifični receptorji za epitope antigenov, ki se nahajajo le na celicah pridobljenega imunskega sistema (5, 6). Vezava mikrobov oz. njihovih

Tabela 1. Poenostavljena taksonomija črevesne mikrobiote (3).

Deblo	Razredi	Rodovi
<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i> , <i>Clostridia</i>	<i>Lactobacillus</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Faecalibacterium</i>
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroides</i> , <i>Prevotella</i>
<i>Proteobacteria</i>	<i>Gamma</i> <i>proteobacteria</i> , <i>Beta</i> <i>proteobacteria</i>	<i>Escherichia</i> , <i>Pseudomonas</i>
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Nocardia</i>

delov na take receptorje sproži celične signalne poti, ki povzročijo prepisovanje specifičnih genov človeške celice in tvorbo različnih produktov (npr. citokinov), ki sprožijo kaskado fizioloških dogajanj v našem organizmu. Komunikacija (angl. *cross-talk*) med mikrobi in organizmom gostitelja je najbrž najpomembnejši mehanizem, s katerim lahko pojasnimo vpliv črevesnih mikroorganizmov na črevesno sluznico, telesno presnovo in na delovanje imunskega ter živčnega sistema (7).

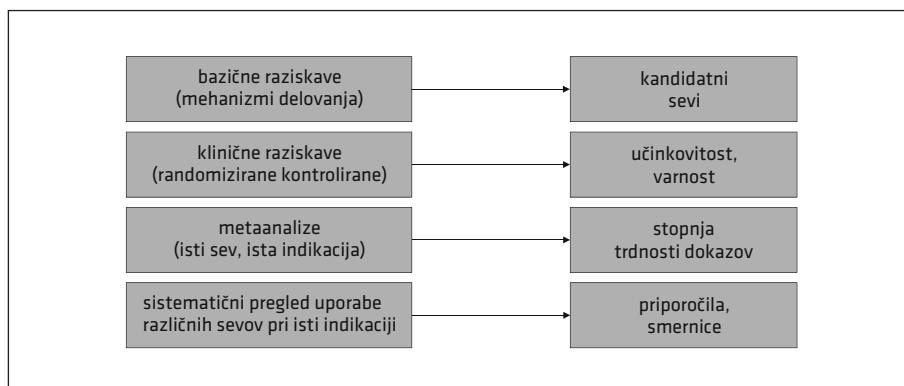
PROBIOTIKI

Začetki znanstvenih spoznanj o možnosti uporabe živih mikroorganizmov za krepitev zdravja sicer segajo že na prehod iz 19. v 20. stoletje z raziskavami nobelovca Elije Metchnikoffa in nekaterih drugih pionirjev mikrobiologije, a je po nekaj desetletjih navdušenja znanstveno zanimanje zanje vsaj v zahodnem svetu iz ne povsem jasnega razloga poniknilo (8). Ponovno se je pojavilo v 80. letih prejšnjega stoletja, še večji razmah (predvsem pa precej trdnejše dokaze o njihovi uporabnosti) pa sta prinesla razvoj boljših analitičnih tehnik in natančnejše uravnana metodologija.

Najbolj razširjena definicija probiotikov je, da so to živi specifični mikroorganizmi, ki imajo, če jih uporabimo v primernem od-

merku, koristne učinke za zdravje (9). Danes je znano, da so mehanizmi delovanja in zato tudi koristni učinki vezani na določene seve in da celo predstavniki drugih sevov iste vrste nimajo enakih oz. imajo lahko povsem drugačne učinke. Lep primer tega so različni sevi bakterije *Escherichia coli*, od katerih so nekateri klasični patogeni mikroorganizmi (npr. enterohemoragična *E. coli* O157:H7), drugi običajni komenzali v človeških prebavilih, sev *E. coli* Nissle 2017 pa je eden najdlje uporabljenih probiotikov z dokazano učinkovitostjo pri nekaterih specifičnih indikacijah (10). Zato nas pozitivni rezultati metaanaliz raziskav uporabe zelo različnih sevov pri isti indikaciji sicer lahko spodbudijo k nadaljnjim raziskavam na tem področju, z vsakdanjega vidika pa nimajo velike praktične uporabnosti.

Na sliki 1 je prikazano sosledje znanstvenih raziskav, ki vodi do jasnih podatkov, katere specifične probiotike (specifične seve in kombinacije specifičnih sevov) je smiselno uporabiti za določen namen. Raziskovanje primernosti seva se začne v laboratorijih, kjer znanstveniki z bazičnimi raziskavami presegajo številne mikroorganizme in iščejo take, ki bi na podlagi lastnosti in mehanizmov delovanja, odkritih na ravni celičnih kultur ali živalskih poskusov, lahko bili klinično učinkoviti in varni za



Slika 1. Sosledje raziskav, ki vodijo do oblikovanja smernic, ki narekujejo, kateri probiotiki so učinkoviti za določen namen.

preprečevanje ali zdravljenje določene bolezni pri človeku. Slednje nato preizkusijo z načeloma randomiziranimi in dvojno slepimi kontroliranimi kliničnimi raziskavami. Če se sev izkaže za klinično učinkovitega v več takih raziskavah pri isti indikaciji, lahko govorimo o probiotičnem sevu. Večino pri več znanih raziskavah z istim sevom pri isti indikaciji opravimo še metaanalizo. Za razliko od prej omenjenih metaanaliz z različnimi probiotiki pa imajo ti rezultati zelo veliko uporabnost, saj lahko na njihovi podlagi strokovnjaki jasno in z dovolj veliko verjetnostjo povedo, katere probiotike je smiselno uporabljati pri različnih indikacijah.

Poleg izbora pravilnega seva ali kombinacije je za učinkovitost pomembna tudi količina živih mikroorganizmov, ki jih zaužijemo, torej odmere probiotika. Veliko mehanizmov delovanja probiotičnih mikroorganizmov je namreč vezanih na njihovo vitalnost. Ker je zakonsko uravnavanje na področju hrane in prehranskih dopolnil precej ohlapno, na policah trgovin in lekarn velikokrat najdemo izdelke, ki so skoraj gotovo neučinkoviti, v redkih primerih pa celo nevarni. Izkazalo se je namreč, da številni izdelki ne vsebujejo specifičnih sevov, ki naj bi jih, vsebujejo pa druge, verjetno neučinkovite seve, v posameznih primerih pa celo pogojno patogene bakterije (11). Še bolj pogosta težava je premajhna količina živih mikroorganizmov v dnevnem odmerku oz. preslabo preživetje mikroorganizmov v izdelku. Zato je za ustrezen učinek probiotika poleg tega, da izberemo ustrezen sev/kombinacijo z dokazano učinkovitostjo pri določeni indikaciji, ključno tudi to, da izberemo kakovosten izdelek zanesljivega proizvajalca.

Uporaba probiotikov

Pri uporabi probiotikov smo vsak dan priča številnim zmotam. Med ljudmi, žal tudi med številnimi zdravstvenimi delavci, še vedno velja prepričanje, da se v zdravi do-

mači hrani (zlasti fermentirani, npr. kislem zelju, repi in jogurtu) nahajajo probiotiki in da za človeka, ki se prehranjuje zdravo, uporaba probiotičnih izdelkov ni smiselna. V omenjenih živilih je sicer res veliko mlečno-kislinskih bakterij, a velika večina nima dokazanih koristnih učinkov na zdravje. Prav tako ti učinki niso specifični, saj ne obstajajo dokazi, da zmanjšujejo pojavnost ali ublažijo potek kakšne znane bolezni ali motnje. Prav tako je razširjena zmotna miselnost o tem, da dober probiotik pokriva širok spekter uporabe (ali povedano drugače – »eden za vse«). Na podlagi poznavanja mehanizmov delovanja specifičnih sevov in rezultatov kliničnih raziskav vemo, da ni tako in da univerzalnega probiotika ni. Če se osredotočimo le na to, kakšen učinek na imunski sistem imajo različni sevi na celični ravni, lahko ugotovimo, da nekateri delujejo kot spodbujevalci imunskega sistema in da lahko pri njih učinek bolj verjetno pričakujemo kot izboljšanje odpornosti ali pa pri podpori zdravljenja okužb, drugi pa delujejo kot regulatorji imunskega sistema in zato lahko od njih pričakujemo ugodne učinke pri različnih boleznih s pretiranim in nenormalnim imunskim odzivom (12). Zato moramo za vsako indikacijo znati izbrati pravi probiotik.

To velikokrat ni preprosto, a je vseeno pri nekaterih stanjih, pri katerih so učinkovitost probiotikov že dolgo proučevali, večinoma na voljo dovolj raziskav, da lahko različne mednarodne skupine strokovnjakov v obliki smernic jasno svetujejo, katere probiotike je smiselno uporabiti. Dober primer predstavljajo smernice za uporabo probiotikov pri akutni infekcijski driski in smernice za preprečevanje driske ob zdravljenju z antibiotiki pri otrocih (13, 14). Zanimivo je, da pri odraslih z drisko nekatere smernice (še) ne svetujejo uporabe probiotikov, saj za njihovo učinkovitost pri tej populaciji ni zadosti dokazov (15). To bi si lahko razlagali, kot da probiotični sevi, ki so bili učinkoviti pri otrocih, pri odraslih niso učin-

koviti. Šele podrobnejši pregled pa pokaže, da so pri odraslih večino kliničnih raziskav, vsaj tistih, ki so jih zaradi ustrezne metodološke kakovosti vključili v pripravo smernic, naredili s popolnoma drugimi, očitno neučinkovitimi sevi. To pomeni, da bo verjetno treba narediti klinične raziskave tudi s sevi, ki so se izkazali pri otrocih, saj je zelo verjetno, da se bodo tudi pri odraslih izkazali za učinkovite.

Možnih področij uporabe probiotikov je veliko. Samo nekatere izmed teh so npr. izboljšanje imunskega odziva (odpornosti pred okužbami) in preprečevanje ter lajšanje atopijskih bolezni (predvsem atopijskega dermatitisa), funkcionalnih prebavnih motenj, kroničnih vnetnih črevesnih bolezni, jetrnih bolezni in mnogih drugih. Za nekatera od teh področij uporabe je učinkovitost posameznih sevov trdno dokazana, na marsikaterem področju pa je trdnost dokazov o učinkovitosti manjša (16). V zadnjih letih se intenzivno raziskuje tudi uporaba probiotikov za zdravljenje avtoimunskih bolezni, debelosti, presnovnega sindroma, psihiatričnih motenj in degenerativnih bolezni osrednjega živčevja (17–20).

VARNOST PROBIOTIKOV

Ko se odločamo, ali bi pri nekem bolniku uporabili probiotik ali ne, ni pomembna le pričakovana korist takega zdravljenja, ampak tudi, kakšnim možnim tveganjem ga izpostavljam. Izsledki številnih raziskav, ki so vključevale tudi beleženje neželenih dogodkov, raziskave na živalskih modelih, predvsem pa dolgoletna množična uporaba kažejo na zelo dober varnostni profil probiotikov (21). Kljub temu pa tako kot kate-

rikoli živ mikroorganizem, ki vstopi v telo ali se v njem nahaja, tudi probiotiki predstavljajo tveganje za pojav sistemske okužbe. Vrsta raziskav kaže, da je celo pri bolnikih z oslabljenim imunskim odzivom, kot so onkološki bolniki na zdravljenju s kemoterapijo in radioterapijo, to tveganje majhno (22, 23). Pred kratkim je Evropska agencija za zdravila posebej opozorila na tveganje fungemije pri uporabi probiotične kvasovke *Saccharomyces boulardii* pri kritično bolnih in imunsko oslabljenih bolnikih. Raba tega probiotika, ki je za razliko od velike večine drugih gliva in ne bakterija, je zato pri teh skupinah bolnikov kontraindicirana (24). Drugo možno nevarnost predstavlja prenos genov za odpornost na antibiotike s probiotičnih mikroorganizmov na druge mikroorganizme, ki bivajo v črevesu. Tak prenos je možen preko konjugacije, vendar le, če se geni za odpornost nahajajo na plazmidni in ne na kromosomski DNK. Danes so vsi probiotični mikroorganizmi (vsaj tisti, ki jih v svoje izdelke vgrajujejo preverjeni proizvajalci) natančno genetsko proučeni in opredeljeni in tako ne smejo vsebovati plazmidne DNK z geni za odpornost na antibiotike. Ker probiotični mikroorganizmi lahko vplivajo na presnovo v črevesju in preko bioaktivnih snovi ter komunikacije s človeškimi celicami tudi pomembno usmerjajo delovanje imunskega sistema, teoretično seveda obstaja tudi tveganje za pojav neželenih presnovnih ali imunskih posledic (npr. ojačanja imunskega odziva pri bolnikih z avtoimunskimi boleznimi). Kljub natančnemu spremljanju morebitnih neželenih dogodkov zaenkrat takšnih učinkov še niso opazili.

LITERATURA

1. Hugon P, Dufour JC, Colson P, et al. A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings. *Lancet Infect Dis*. 2015; 15: 1211–9.
2. Li J, Jia H, Cai X, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol*. 2014; 32: 834–41.
3. Johnson CL, Versalovic J. The human microbiome and its potential importance to pediatrics. *Pediatrics*. 2012; 129: 950–60.
4. Appanna VD, ed. *Human microbes - the power within*. Singapore: Springer; 2018. p. 81–122.
5. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017; 474: 1823–36.
6. Zhang CX, Wang HY, Chen TX. Interactions between intestinal microflora/probiotics and the immune system. *Biomed Res Int*. 2019; 2019: 6764919.
7. Dieterich W, Schink M, Zopf Y. Microbiota in the gastrointestinal tract. *Med Sci (Basel)*. 2018; 6 (4). pii: E116.
8. Gasbarrini G, Bonvicini F, Giamenzi A. Probiotics history. *J Clin Gastroenterol*. 2016; 50: 116–9.
9. Hill C, Guarner F, Reid G, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11: 506–14.
10. Losurdo G, Iannone A, Contaldo A, et al. *Escherichia coli* Nissle 1917 in ulcerative colitis treatment: Systematic review and meta-analysis. *J Gastrointest Liver Dis*. 2015; 24 (4): 499–505.
11. Kolacek S, Hojsak I, Berni Canani R, et al. Commercial probiotic products: A call for improved quality control. A position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017; 65: 117–24.
12. Azad MAK, Sarker M, Wan D. Immunomodulatory effects of probiotics on cytokine profiles. *Bio Med Res Intern*. 2018; 2018: 8063647.
13. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: A position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014; 58: 531–9.
14. Szajewska H, Berni Canani R, Guarino A, et al. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016; 62: 495–506.
15. Riddle MS, DuPont HL, Connor BA. ACG clinical guideline: Diagnosis, treatment, and prevention of acute diarrheal infections in adults. *Am J Gastroenterol*. 2016; 111 (5): 602–22.
16. Floch MH, Walker WA, Sanders ME, et al. Recommendations for probiotic use–2015 update. *J Clin Gastroenterol*. 2015; 49: S69–S73.
17. Liu Y, Alookaran JJ, Rhoads JM. Probiotics in autoimmune and inflammatory disorders. *Nutrients*. 2018; 10: 1537.
18. Wang ZB, Xin SS, Ding LN, et al. The potential role of probiotics in controlling overweight/obesity and associated metabolic parameters in adults: A systematic review and meta-analysis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019; 2019: 3862971.
19. Herman A. Probiotics supplementation in prophylaxis and treatment of depressive and anxiety disorders – review of current research. *Psychiatr Pol*. 2019; 53: 459–73.
20. Cheng LH, Liu YW, Wu CC, et al. Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *J Food Drug Anal*. 2019; 27: 632–48.
21. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis*. 2015; 60: S129–34.
22. Lu D, Yan J, Liu F, et al. Probiotics in preventing and treating chemotherapy-induced diarrhea: A meta-analysis. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2019; 28: 701–10.
23. Devaraj NK, Suppiah S, Veettil SK, et al. The effects of probiotic supplementation on the incidence of diarrhea in cancer patients receiving radiation therapy: A systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis of randomized controlled trials. *Nutrients* 2019; 11. pii: E2886.
24. Annex I: Scientific conclusions and grounds for the variation to the terms of the Marketing Authorisation(s). European Medicines Agency [smernice na internetu]. 2017 [citirano 2020 Jan 20]. Dosegljivo na: https://www.ema.europa.eu/en/documents/psusa/saccharomyces-boulardii-cmdh-scientific-conclusions-grounds-variation-amendments-product-information/00009284/201702_en.pdf.