

Střevní mikrobiální flóra, prostupnost střeva a abnormální imunita u onemocnění ledvin

Anders H-J, Andersen K, Stecher B. The intestinal microbiota, a leaky gut, and abnormal immunity in kidney disease. *Kidney Int* 2013;83:110–1016.

Chronické onemocnění ledvin (CKD) a následně chronické selhání ledvin (ESRD) jsou spojeny s projevy systémového zánětu a současně získanou imunodeficiencí, které mohou ovlivnit rozvoj kardiovaskulárních onemocnění, úbytek aktivní tělesné hmotnosti a závažné život ohrožující infekce. Tento stav zůstává přes účinnou dialyzační léčbu vedoucí k celkovému zlepšení metabolických parametrů. Je nepochybné, že velmi významnou imunomodulační a imunoregulační roli hraje střevní mikroflóra a prostupnost střevní stěny pro patogeny.

Pojem mikrobiální flóra znamená popis 10^{13} bakteriálních buněk z 200–500 různých bakteriálních společenství kolonizujících zevní a vnitřní tělesné povrchy lidského těla. Střevní mikroflóra tvoří s hostitelem vzájemně výhodnou koexistenci. Bakterie využívají stabilní vnitřní prostředí střeva a současně se podílejí na metabolickém využití energeticky bohatých živin a vitamínů. Navíc stabilní složení mikrobiální flóry indukuje a udržuje imunitní homeostázu a ochranu proti patogenním kmenům. V rámci mezinárodní studie Human Microbiome Project and Metagenomics of the Human Intestinal Tract byla vypracována sekvenční genová technologie k podrobnějšímu mapování bakteriomu, jeho složení a funkci. Jak známo, střevo patří k tkáním s nejbohatším zastoupením lymfatické tkáně. Prostupnost střevní stěny pro mikrobiální patogeny rozhoduje významně o prognóze nemocných např. v septických stavech.

V této studii byly analyzovány role mikrobiální střevní flóry jak s ohledem na imunitu u nemocných s chronickým onemocněním ledvin, tak na vznik autoimunitních onemocnění a chronického poškození myokardu a jater. Role mikrobiální flóry v procesu tvorby a metabolizace uremických toxinů byla již dříve opakovaně potvrzena. Méně pozornosti je však dosud věnováno roli střevní mikroflóry na vzniku a progresi systémových zánětlivých projevů, katabolismu s degradací proteinů, akcelerované ateroskleróze a deficitu imunity.

Gastrointestinální trakt je osídlen různými typy bakterií po celé své délce v závislosti na vnitřním prostředí jednotlivých úseků. U zdravých jedinců je složení střevní flóry poměrně stabilní a typické pro jednotlivce. Více než 90 % tvoří kmeny *Bacteroides* a *Firmicutes* doplněné např. clostridii, lactobacilem, bifidobakteriemi, helicobakterem či enterobakteriemi. Velká většina bakterií je striktně či fakultativně anaerobní. Proto pokles tenze kyslíku ve stěně GIT směrem od žaludku přes tenké a tlusté střevo vede k řádovému nárůstu počtu mikrobů. K nárůstu bakterií přispívá též složení stravy. Vyšší obsah jednoduchých proteinů v dietě, které jsou snazší k metabolizaci, snižuje celkové množství bakterií

v daném úseku střeva ve srovnání s rostlinnými polysacharidy či rezistentními škroby. Některé bakteriální kmeny, např. *Bacteriodes*, obsahují enzymy štěpící složené polysacharidy na oligo- a monomery. Ty jsou dále degradovány až na vodíkový iont, CO₂ a krátké mastné kyseliny, např. acetát, butyrát, propionát, dále na laktát či etanol, které mohou dále sloužit jako metabolicko-nutriční substrát pro další bakteriální fermentační reakce. Neporušená střevní stěna zaručuje ochranu před bakteriální translokací. Vedle vrstvy ochranného hlenu se uplatňují defenziny a antibakteriální lektiny střevního epitelu aktivované přímým kontaktem s bakteriemi. Odpověď je vázána i na bakteriom přítomný v daném místě střeva a při jeho změně, stejně jako při poruše integrity stěny pak může být translokace přítomna. Přesný mechanismus této formy imunitní odpovědi střeva není zcela objasněn, je však zřejmé, že se mohou uplatňovat i mediátory zánětu, především IL-10, či za přítomnosti anaerobního clostridia indukované FoxP3+ regulační T-buňky.

Vliv CKD a ERDS na střevní mikroflóru a propustnost střevní stěny

V experimentálních i klinických studiích u uremických a neuremických jedinců bylo prokázáno, že existují významné rozdíly ve složení střevní mikroflóry. To platí i u kontrolních vyšetření jednotlivých nemocných. Předpokládá se, že významnou roli mohou hrát i metabolická acidóza, retence tzv. uremických toxinů, převodnění s kongescí střevní stěny, časté použití antibiotik a podávání perorálního železa. Také střevní ischemie se změnou saturace kyslíku může vést k dysmikrobii, zvláště u nemocných užívajících blokátory RAAS či při již přítomných cévním kalcifikacích. Látky ovlivňující resorpci fosfátů, např. sevalamer, ovlivňují též střevní produkty bakterií. Velká role může připadat dietě, kdy se změnou mikroflóry se může měnit i imunitní odpověď organismu (prebiotika, probiotika). Např. tzv. euro-americká dieta s malým zastoupením komplexu rostlinných polysacharidů bezprostředně ovlivní mikrobiom, ale také T-buňky zprostředkující autoimunitu. Nízkobílkovinná dieta s omezením sýrů bohatých na fosfát mění symbionty ve střevní flóře. Potrava bohatá na sójový protein s vysokým obsahem vlákniny moduluje mikrobiom ve střevě k produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem s prozánětlivým účinkem a potenciálem k ovlivnění rozvoje diabetu a aterosklerotických změn.

Propustnost střevní stěny může ovlivnit systémový zánět u nemocných s CKD a ESRD a podílet se na progresi onemocnění

Jak bylo prokázáno v řadě studií, závažné snížení renální funkce nevede pouze k metabolickým odchylkám, ale prozánětlivý stav je spojen se zvýšenou koncentrací CRP, pentraxinu-3 a dalších prozánětlivých cytokinů (TNFα, IL-6, leptin). Také aktivace monocytů/makrofágů vyvolaná bakteriálními lipopolysacharidy může být vysvětlením vysoké prozánětlivé aktivity v CKD/ESRD (krajní případ je gram-negativní sepsis z translokace gram-negativní střevní flóry). Překvapivě velmi významné je převodnění u nemocných s ESRD, které působí podobně jako městnavé srdeční selhání: je porušena bariéra umožňující translokaci bakterií, zvyšuje se množství endotoxinu a cytokinů a snižuje se odpověď na diuretickou terapii. Wang a spol. v nové publikaci prokázali v experimentální urémii u potkanů bakteriální translokaci ze střeva do mezenterických lymfatických uzlin, jater a sleziny, což bylo spojeno se zvýšenou koncentrací IL-6 a CRP. Hodnoty bakteriálních lipopolysacharidů (LPS) byly významně zvýšeny u pacientů v dialyzačním programu podobně jako u nemocných s jaterním selháním, zánětem střeva

či při dekompenzovaném srdečním selhání. Dle některých studií může být hodnota LPS významným nezávislým prediktorem mortality těchto nemocných. Indukovaný systémový zánět přispívá k akcelerované ateroskleróze, katabolismu a úbytku tělesné hmotnosti. Bakteriální produkty aktivují receptory řady různých buněk, jako např. vaskulárních endoteliálních buněk, dendritických buněk a makrofágů. Tím by mohl být vysvětlen vztah mezi translokací bakteriálních produktů u nemocných s CKD a aktivací četných imunitních procesů. Např. receptor pro LPS, toll-like receptor (TLR4), je mediátor aterosklerózy, jehož aktivace může akcelarovat vývoj aterosklerózy u nefrologických pacientů. Analogickým mechanismem TLR-zprostředkované intrarenální imunitní buňky vedou k progresi CKD. Lze tedy předpokládat, že čím vyšší je koncentrace cirkulujících bakteriálních produktů, tím větší je aktivace makrofágů a dalších imunitních buněk jak v ledvinné tkáni, tak v cévách, a dochází k další produkci prozánětlivých mediátorů a přechodu dosud latentně probíhajícího onemocnění do aktivní formy zánětlivé reakce s ostatními průvodními projevy. Navíc, bakterie tlustého střeva produkují uremické toxiny, např. α-fenylacetyl-l-glutamin, 5-hydroxyindol, indoxyl glukuronid, p-kresol sulfát a indoxylsulfát.

Lze tedy předpokládat, a potvrzují to experimentální studie u potkanů s podáním nepatogenní bakterie *Sprosaricina pasteurii*, že úprava mikrobiomu může zlepšit a zpomalit i progresi ledvinného onemocnění.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

Složení střevní mikroflóry u nefrologických nemocných věnují nefrologové dosud menší pozornost. Je však zřejmé, že individuální složení bakteriomu může významně ovlivnit jak imunitní odpověď, tak progresi onemocnění. Navíc je úzce spojena s problematikou uremických toxinů, z nichž značná část ve střevě vzniká, či je zde dále metabolizována. Střevní mikroflóra rozhoduje o metabolizaci živin a tvorbě konečných produktů metabolismu. Největší pozornost z tohoto aspektu je nyní zaměřena na fermentační proces sacharidů v tenkém střevě. Zde konečné produkty zahrnují vodík, metan a krátké mastné kyseliny, jako jsou butyrát, propionát a acetát. Část z nich je dále využita k metabolizaci i v tlustém střevě. Degradace proteinů byla studována v součinnosti s přítomností proteinů v dietě. Probíhá v několika stupních, z nichž proteázy a peptidázy postupně rozvolňují struktury proteinů na peptidy a aminokyseliny. Aminokyseliny přítomné v tlustém střevě jsou využity samotnými bakteriemi k růstu, či jsou dále metabolizovány na mastné kyseliny s krátkým nebo dlouhým řetězcem a další metabolity, jako jsou potenciálně toxické látky amoniak, aminy, thioly, fenoly a indoly. Z tohoto aspektu jsou bakteriální druhy děleny na sacharolytické a proteolytické. Jejich vzájemné zastoupení je významně závislé na typu stravy a může se i u jednotlivce měnit v závislosti na poměru konečných CHO produktů k dusíku (sacharolytické vs. proteolytické fermentace).

Bakteriální metabolismus u nemocných s CKD a možnosti jeho ovlivnění

Kalantar-Zadeh ve své studii u dialyzovaných nemocných poprvé prokázal, že tito pacienti konzumují významně méně vlákniny ve srovnání s kontrolní skupinou, ačkoli nebyly rozdíly v příjmu proteinů. Vysvětlením byla restrikce v příjmu kaloria vedoucí k omezení příjmu ovoce a zeleniny.

Tzv. kolonický tranzitní čas je u nemocných s CKD významně prodloužen. Pacienti často trpí zácpou, která byla u hemodialy-

zovaných zjištěna více než v 60 %. Uplatňuje se zde více faktorů – nízký příjem tekutin, snížená pohybová aktivita, fosfátové vazáče, dietní omezení (vláknina), diabetes mellitus, srdeční selhání, polycystické ledviny, malnutrice apod. Lepší je z tohoto aspektu situace u nemocných s CAPD. Přímá translokace bakterií ze střeva v důsledku obstrukce může být nižší, ale vzhledem k přítomnosti peritoneálního katétru a roztoku obsahujícího nutriety v peritoneální dutině je výskyt peritonitid s gram-negativní flórou značně vysoký. Průměrný kolonický tranzitní čas při HD činil 43 hodin, při CAPD 33 hodin a u zdravých kontrol 24 hodin.

Léčebná opatření mohou být rozdělena do dvou hlavních skupin: 1) úprava bakteriomu v tlustém střevě snižující tvorbu bakteriálních toxinů a 2) vyvázání konečných toxických produktů mikrobiální fermentace.

1) *Modulace bakteriomu spočívá ve změně poměru mezi sacharolytickými a proteolytickými bakteriemi ve prospěch sacharolytických. Významnou roli zde sehrávají probiotika a prebiotika. Probiotika jsou definována jako živé bakteriální kultury, které po přijetí v úměrném množství upravují složení bakteriální flóry se snížením toxického účinku. Nejčastěji podávané obsahují Lactobacillus a Bifidobacterium. Z hlediska účinku u nefrologických nemocných byl uváděn nižší výskyt infekcí močových cest a celkové zvýšení imunitní aktivity. Jasně důkazy v ovlivnění kardiovaskulárních komplikací, nádorů či mortality však dosud podány nebyly. Pojem prebiotika byl poprvé užít k definování obtížně stravitelných součástí potravy, které mohou selektivně stimulovat růst a aktivitu jednoho nebo limitovaného počtu bakterií v kolon, a tedy upravující složení bakteriomu ve prospěch hostitele. Přesně tato kritéria splňují bifidogenní nevstřebatelné oligosacharidy (např. inulin). V klinické praxi však většinou jde o polysacharidy typu vlákniny či nevstřebatelných škrobů. Většina těchto produktů je v ovoci a zelenině, které tak příznivě mění bakteriom a snižují zastoupení proteolytických fermentačních bakterií a jejich toxických produktů. Je zajímavé, že podobný účinek byl prokázán i u nízkobílkovinných diet, především selektivního typu s vysokým zastoupením vlákniny či sójového proteinu.*

2) *Adsorpce mikrobiálních metabolitů je spojena s podáním látek blokujících jejich resorpci. Z tohoto aspektu byl studován perorálně podávaný adsorbent AST-120 (Kremezin) obsahující sferické uhlíkové partikule velikosti 2–4 µm. Vzhledem k velmi poréznímu povrchu adsorbují velké množství různých toxických organických substancí ve střevě a jejich užití se připravuje pro klinickou praxi. Mnohem častěji užívaný sevelamer hydrochlorid (Renagel, Renvela) je nemetalický fosfátový vazáč, který vedle fosfátů a lipidových partikulí blokuje ve střevě i resorpci dalších látek, např. indolyl sulfátu či p-kresyl sulfátu. Podobné atributy byly prokázány i u ketoanalog esenciálních aminokyselin, které blokují resorpci fosfátu ve střevě a snižují spolu s nízkobílkovinnou dietou produkci bakteriálních toxinů.*

Literatura

- Evenopoel P, Meijers BK, Bammens BR, et al. Uremic toxins originating from colonic microbial metabolism. *Kidney Int Suppl* 2009;S12–S19.
- Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Deepak S, et al. Food intake characteristics of hemodialysis patients as obtained by food frequency questionnaire. *J Ren Nutr* 2002;12:17–31.
- McIntyre CW, Harrison LE, Eldehni MT, et al. Circulating endotoxemia: novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:133–141.
- Schulman G, Agarwal R, Acharya M, et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of AST-120 (Kremezin) in patients with moderate to severe CKD. *Am J Kidney Dis* 2006;47:565–577.
- Wang F, Zhang P, Juany H, et al. Gut bacterial translocation contributes to microinflammation in experimental uremia. *Dig Dis Sci* 2012;57:2856–2862.