

Mikrobiota jelitowa a przeszczep kału

Intestinal microbiota and faecal transplantation

JOLANTA NUREK^{1/}, MAGDALENA GIBAS-DORNA^{2/}

^{1/} Specjalistyczna Praktyka Lekarska Jolanta Nurek w Poznaniu

^{2/} Katedra i Zakład Fizjologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Przewód pokarmowy człowieka jest zasiedlony przez ok. 100 bilionów (10^{14}) bakterii, których kolonizacja rozpoczyna się tuż po narodzinach. Stan równowagi funkcjonalnej i ilościowej mikrobiomu jelitowego, zwany eubiozą, może ulec zachwianiu pod wpływem czynników endo- oraz egzogennych, które wprowadzają organizm ludzki w tzw. dysbiozę. Konsekwencje dysbiozy sięgają nie tylko zmian lokalnych związanych z naruszeniem integralności bariery jelitowej, ale mogą też wpływać na funkcje odległych narządów takich, jak wątroba czy centralny układ nerwowy. W ostatniej dekadzie coraz większe zainteresowanie budzi interwencja terapeutyczna, jaką jest przeszczep kału ludzkiego (*faecal microbiota transplantation* – FMT). Jak dotąd FMT zostało najlepiej opisane w przypadkach nawracających zakażeń bakteriami *Clostridium difficile* o ciężkim przebiegu i przy braku skuteczności terapii konwencjonalnej – antybiotykoterapii. Pomimo zachęcających efektów związanych ze skutecznością FMT, terapia ta jest nadal traktowana jako terapia o charakterze eksperymentalnym. W literaturze światowej podkreśla się konieczność dalszych wieloośrodkowych i kontrolowanych badań w zakresie dokładnych mechanizmów działania FMT oraz bezpieczeństwa pacjentów.

Słowa kluczowe: mikrobiom jelitowy, przeszczep kału, *Clostridium difficile*

Human intestinal microbiota consists of up to 100 trillion (10^{14}) microorganisms that start to colonize the gastrointestinal system (GI) right after birth. The functional and quantitative balance of the intestinal microbiome, known as eubiosis, may be disturbed by endo- and exogenous factors, which may lead to dysbiosis – impairment of the natural balance of GI bacteria. The mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis may include local changes, such as violation of the intestinal barrier's integrity, but also systemic changes, such as dysfunction of other, more distant organs, such as the liver or the central nervous system. Over the last decade, there has been increasing evidence for faecal microbiota transplantation (FMT) as an acceptable treatment for individuals with recurrent *Clostridium difficile* infection unresponsive to conventional therapy (antibiotics). Although the effects of FMT are promising, this therapy is still treated as experimental, and international literature emphasizes the need for further multicentre and controlled studies on the precise mechanisms of FMT and patient safety.

Key words: *intestinal microbiota, faecal microbiota transplantation, Clostridium difficile*

© Hygeia Public Health 2019, 54(1): 11-14

www.h-ph.pl

Nadesłano: 03.02.2019

Zakwalifikowano do druku: 28.02.2019

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Magdalena Gibas-Dorna

Katedra i Zakład Fizjologii

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. Świącickiego 6, 60-789 Poznań

tel. 601 31 02 37, e-mail: physioplus@wp.pl

Znaczenie mikroflory jelitowej a dysbioza

W przewodzie pokarmowym człowieka rezyduje ponad 500 rodzajów szczepów bakteryjnych zawierających ok. 100 bilionów (10^{14}) bakterii. Kolonizacja przewodu pokarmowego rozpoczyna się tuż po urodzeniu, a ostateczny skład mikroflory bakteryjnej zależy od wielu czynników pochodzenia endo- i egzogennego. Dla przykładu, u noworodków urodzonych siłami natury szczepy bakteryjne w jelicie grubym odzwierciedlają niemal w 72% te, które obecne są u ich matek, podczas gdy u dzieci urodzonych przez cięcie cesarskie odsetek ten wynosi zaledwie 41% [1]. Niewątpliwie najliczniejszą florę bakteryjną posiada jelito grube, ze względu na wolny pasaż jelitowy. W skład mikrobiomu jelita grubego wchodzi bakterie z rodzaju *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *En-*

terococcus, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* i *Bacillus*. W okresie dorosłości/dojrzałości skład mikroflory jest względnie stały, niepowtarzalny dla każdego człowieka i zależny od ograniczeń, jakie stawia naturalna bariera jelitowa, na którą składają się czynniki fizyczne (warstwy nabłonkowa i śluzówkowa ściany jelita), biochemiczne (enzymy i białka o działaniu przeciwbakteryjnym) oraz immunologiczne (wydzielnicze IgA, lokalne komórki układu immunologicznego) [2]. Układ mikroorganizmów jelitowych staje się mniej stabilny w okresie starzenia się organizmu. Zwiększa się wtedy liczba bakterii z rodzajów *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Clostridium* i *Eubacterium*, natomiast zmniejszeniu ulegają rodzaje *Bacteroides* i *Bifidobacterium* [3]. Może on też podlegać zmianom związanym z czynnikami

znacząco wpływającymi na zachwianie stanu równowagi ilościowej i funkcjonalnej mikrobiomu jelitowego (tzw. stanu eubiozy) wprowadzając organizm w dysbiozę. Do takich czynników zalicza się m.in.: niewłaściwą dietę, procesy starzenia, choroby przewodu pokarmowego, zabiegi operacyjne na przewodzie pokarmowym, palenie tytoniu, antybiotykoterapię, chemioterapię, sterydoterapię czy stosowanie inhibitorów pompy protonowej [4].

Znaczenie mikroflory jelitowej dla utrzymania szeroko pojętej homeostazy jest tak duże, że często nazywa się ją dodatkowym narządem w organizmie człowieka. Wśród najważniejszych korzyści, jakie organizm ludzki czerpie z obecności mikroflory jelitowej wymienia się utrzymanie integralnej bariery śluzówkowej jelita, pobudzanie motoryki przewodu pokarmowego, ograniczenie wchłaniania cholesterolu, udział w procesach trawiennych, produkcję witamin: K, B₁₂ (kobalamina; cyjanokobalamina), B₂ (ryboflawiny), B₇ (biotyny), B₃ (kwasu nikotynowego; niacyny), B₁ (tiaminy), B₆ (pirydoksyny), ochronę przed inwazją patogenów oraz immunostymulację [5]. Ponadto istnieje związek pomiędzy zależnym od diety składem mikrobioty jelitowej, a funkcjonowaniem osi jelitowo-mózgowej i jelitowo-wątrobowej, w których sygnał przekazywany jest dwukierunkowo drogą endokrynną, neuronalną, immunologiczną oraz metaboliczną [6, 7]. Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe (*short chain fatty acids* – SCFAs), będące produktem fermentacji bakteryjnej w jelicie grubym, stanowią najważniejszy czynnik metaboliczny w komunikacji pomiędzy mikrobiotą jelitową a mózgiem czy wątrobą. SCFAs bakterii jelitowych mogą wpływać na funkcje poznawcze, nastrój, zachowania żywieniowe, sen, czy też wywierać korzystny wpływ na metaboliczne funkcje wątroby. SCFAs posiadają też silne właściwości immunomodulacyjne, wykazując działanie przeciwzapalne i przeciwnowotworowe [8].

Lokalnie konsekwencją dysbiozy jest naruszenie integralności bariery jelitowej (tzw. zespół nieszczelnego jelita), co skutkuje translokacją bakteryjną i przenikaniem antygenów do układu krążenia, a przez to aktywacją układu immunologicznego z wywołaniem odpowiedzi zapalnej [9]. Ponadto dysbioza jelitowa, poprzez brak wpływu ochronnego, ułatwia kolonizację bakterii potencjalnie chorobotwórczych, do których należą m.in. bakterie *Clostridium difficile* (CD), a zwłaszcza hiperwirulentny toksynotwórczy szczep CD B1/NAP1/027 [10].

Przeszczep kału (FMT)

Bakterie CD zostały uznane za jedną z najczęstszych przyczyn zakażeń wewnątrzszpitalnych, często o ciężkim przebiegu i wysokiej śmiertelności (zaka-

żenia wywołane przez szczep CD B1/NAP1/027), szczególnie w populacji pacjentów starszych, powyżej 65 r.ż. [11, 12]. W leczeniu, oprócz stosowania antybiotykoterapii wraz z jej wszystkimi negatywnymi konsekwencjami (antybiotykooporność czy dalsze pogłębianie dysbiozy), coraz częściej podnosi się wzrost znaczenia terapii naturalnej, jaką niewątpliwie jest przeszczep kału, czyli wprowadzenie do przewodu pokarmowego bakterii kałowych od zdrowych dawców (*fecal microbiota transplantation* – FMT). Procedura ta wydaje się być bezpieczna, dobrze tolerowana przez samych pacjentów i obciążona minimalnym ryzykiem wczesnych powikłań. Dane literaturowe jednoznacznie potwierdziły ponad 80% skuteczność FMT w przypadkach, gdy: 1. obraz kliniczny wskazuje na zakażenie nawracające, tzw. rCDI (*recurrent CD infection*), a nawrót choroby wystąpił w ciągu 8 tygodni od poprzedniego epizodu; 2. oporność na leczenie klasyczne (Wankomycyną, Metronidazolem, Fidaksomycyną); czy też 3. ma postać o ciężkim przebiegu (biegunka, gorączka, objawy otrzewnowe, niestabilność krążeniowo-oddechowa, leukocytoza powyżej 15000/μl, podwyższone wskaźniki zapalne, rzekomoblioniaste zapalenie jelit potwierdzone endoskopowo i inne powikłania) [13].

Zalecenia ekspertów

W oparciu o aktualne stanowisko Europejskiego Towarzystwa Mikrobiologii Klinicznej i Chorób Zakaźnych (*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* – ESCMID) oraz Amerykańskiego Towarzystwa Gastroenterologicznego (*American College of Gastroenterology* – ACG), w 2016 r. międzynarodowy zespół ekspertów europejskich opracował i opublikował wspólny raport, którego celem było usystematyzowanie danych opartych na faktach (*evidence-based consensus*) oraz zdefiniowanie wskazań do FMT, metodologii, jak i wymagań odnośnie wyspecjalizowanych ośrodków docelowo zajmujących się FMT [14]. Raport jednoznacznie rekomenduje FMT jako skuteczną opcję terapeutyczną dla pacjentów z: rCDI, zakażeniem CD opornym na antybiotykoterapię oraz zakażeniem CD o ciężkim przebiegu.

Pomimo coraz większej wiedzy odnośnie korzystnego działania FMT w innych jednostkach chorobowych (zespół jelita drażliwego, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, choroba Leśniowskiego-Crohna, zaburzenia psychiatryczne, zaburzenia metaboliczne, w tym otyłość, czy też zastosowanie FMT u pacjentów pediatrycznych), w raporcie nie uwzględniono innych poza CD wskazań. Wynika to z niewystarczająco licznych doniesień naukowych opartych na kontrolowanych placebo badaniach wieloosrodkowych.

Dawcy

Dawcą może zostać każdy zdrowy człowiek, który spełni kryteria włączające. Celem minimalizacji ryzyka objawów niepożądanych związanych z FMT zaleca się kilkuetapową selekcję potencjalnych dawców. W pierwszym etapie przeprowadza się szczegółowe badanie przy pomocy kwestionariusza, który obejmuje wywiad medyczny, styl życia, wiek (preferuje się dawców poniżej 60 r.ż.). W wywiadzie medycznym należy zwrócić szczególną uwagę na zaburzenia przewodu pokarmowego, zaburzenia metaboliczne i psychiatryczne oraz przyjmowane leki, które mogłyby niekorzystnie wpływać na mikrobiom jelitowy. Kwestionariusz oparty jest o międzynarodowe wytyczne [14].

Na ok. 4 tygodnie przed donacją przeprowadza się badania krwi oraz stolca w kierunku chorób o charakterze infekcyjnym. W dniu pobrania ponownie przeprowadza się badanie fizykalne dawcy oraz przy pomocy kwestionariusza w celu sprawdzenia/wykluczenia sytuacji/czynników potencjalnie niebezpiecznych dla biorcy (np. objawy ostrej infekcji u dawcy, czy nowi od ostatniego badania partnerzy seksualni) [14].

Materiał i droga podania

Do FMT wykorzystuje się minimum 30 g materiału świeżego (przeszczep w ciągu 6 godzin od pobrania), jak i mrożonego (mrożenie w temp. -80°C , po dodaniu glicerolu; podanie w ciągu 6 godzin od rozmrożenia) z porównywalną skutecznością terapeutyczną [14].

Po odpowiednim przygotowaniu pacjenta (3 dni antybiotykoterapii, płukanie jelita glikolem polietylenowym) podaje się zawiesinę bakterii jelitowych w soli fizjologicznej przy użyciu kolonoskopu, wlewki doodbytniczych, które są preferowaną metodą podania u dzieci oraz u pacjentów w ciężkim stanie z przeciwwskazaniami do kolonoskopii, lub przez sondę nosowo-dwunastniczą, czy gastroskop [14].

Po przeszczepie pacjenci powinni być monitorowani przez co najmniej 8 tygodni odnośnie ich stanu fizycznego, parametrów laboratoryjnych, radiologicznych lub endoskopowych. Nie zaleca się natomiast wielokrotnego badania kału w kierunku toksyn A i B, gdyż toksyny wydzielane przez CD mogą pozostać dodatkowo przez okres kilku tygodni. Obecnie najlepszym badaniem służącym do wykrywania obecności szczepów toksynotwórczych jest test genetyczny amplifikacji kwasów nukleinowych (*nucleic acid amplification test* – NAAT) [15].

Stanowisko FDA

Amerykański Urząd do spraw Żywności i Leków (*U.S. Food and Drug Administration* – FDA) zaklasyfikował kał ludzki do czynników biologicznych,

a wobec FMT polecił szczególnie ostrożne wykorzystanie materiału, które miałyby w pierwszej kolejności uwzględniać bezpieczeństwo pacjenta. W dokumencie *Enforcement Policy Regarding Investigational New Drug Requirements for Use of Fecal Microbiota for Transplantation to Treat Clostridium difficile Infection Not Responsive to Standard Therapies* podkreślono, że: 1. pacjent (tu: potencjalny biorca) lub przedstawiciel prawny pacjenta musi wyrazić świadomą zgodę na FMT, 2. materiał do przeszczepu powinien być świeży i nie powinien pochodzić z banku kału, 3. dawca oraz sam materiał pobrany od dawcy powinny podlegać szczegółowej kwalifikacji i badaniu przez wykwalifikowany do tego celu personel medyczny [16].

Stanowisko FDA jest bardzo zachowawcze. Pomimo, że zabiegi przeprowadzane są na świecie od ponad 10. lat (w Polsce od 2012 r.), FDA nadal klasyfikuje FMT jako terapię eksperymentalną i to wyłącznie przy zakażeniu CD opornym na terapię konwencjonalną. FDA wyraźnie wskazuje na konieczność dalszych wieloosrodkowych kontrolowanych badań odnośnie bezpieczeństwa i metodyki FMT [17].

FMT drogą doustną

Przeszczep kału ludzkiego przy użyciu metod endoskopowych jest kosztowne i wymaga specjalnego przygotowania. Z tego powodu coraz większe zainteresowanie budzi forma doustna w postaci kapsułek z liofilizowanym proszkiem zawierającym pełne spektrum drobnoustrojów przewodu pokarmowego. Pojawiły się już pierwsze doniesienia/opisy przypadków świadczące o porównywalnej skuteczności preparatów liofilizowanych w odniesieniu do zawiesiny świeżej [18]. Z pewnością doustna droga podania byłaby najlepszą opcją FMT, wymaga to jednak potwierdzenia w badaniach randomizowanych oraz akceptacji ze strony samych pacjentów po przełamaniu bariery psychologicznej.

FMT – efekty uboczne

Wczesne efekty niepożądane FMT są nieliczne i najczęściej związane z samą procedurą podania zawiesiny (te mogą nawet zagrażać życiu pacjenta). Późne – nie zostały jeszcze dobrze opisane. Spośród czynników ryzyka związanych z FMT bierze się też pod uwagę możliwość przeniesienia infekcji z dawcy na biorcę jako, że: 1. screening dawcy nie uwzględnia wszystkich możliwych chorób zakaźnych, które mogą być przeniesione tą drogą, ponadto istnieje też ryzyko zakażenia patogenami, których jeszcze nie znamy, 2. w dniu badania zakażeni dawcy będący w okresie utajenia (tzw. okno serologiczne) mogą pozytywnie przejść kwalifikację do FMT, 3. zawiesina kału zawiera nie tylko pożyteczne bakterie, ale też cały szereg innych mikroorganizmów i szczepów bakteryjnych

potencjalnie chorobotwórczych, których wzajemne oddziaływanie nie jest znane [19].

W metaanalizie poświęconej efektom ubocznym FMT, a zwłaszcza związanym z metodyką endoskopową FMT, Wang i wsp. wyraźnie podkreślają konieczność dalszych badań w tym zakresie [20].

Podsumowanie

Przeszczep kału ludzkiego jako skuteczna terapia mająca na celu odtworzenie naturalnej mikroflory jelita grubego cieszy się coraz większym zainteresowaniem klinicystów, jednak mechanizmy związane z oddziaływaniem transferowanych szczepów bakteryjnych na organizm biorcy nie zostały jeszcze wyjaśnione.

Piśmiennictwo / References

1. Thursby E, Juge E. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* 2017, 474(11): 1823-1836.
2. Cani PD. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut* 2018, 67(9): 1716-1725.
3. Jaworski A, Dudek K, Jurczak I. Struktura i rola biologiczna mikroflory przewodu pokarmowego człowieka w zdrowiu i w chorobie. *JHSM* 2016, 4: 37-61.
4. Konturek PC, Haziri D, Brzozowski T, et al. Emerging role of fecal microbiota therapy in the treatment of gastrointestinal and extra-gastrointestinal diseases. *J Physiol Pharmacol* 2015, 66(4): 483-491.
5. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ* 2018, 361: k2179.
6. Martin CR, Osadchiy V, Kalani A, Mayer EA. The brain-gut-microbiome axis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2018, 6(2): 133-148.
7. Federico A, Dallio M, Caprio GG, et al. Gut microbiota and the liver. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2017, 63(4): 385-398.
8. Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, et al. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol* 2016, 7: 185.
9. Carding S, Verbeke K, Vipond DT, et al. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis* 2015, 26: 26191.
10. Joško-Ochojska J, Spande L. Zakażenia *Clostridium difficile* jako problem zdrowia publicznego. *Probl Hig Epidemiol* 2014, 95(3): 568-573.
11. Pechal A, Lin K, Allen S, Reveles K. National age group trends in *Clostridium difficile* infection incidence and health outcomes in United States Community Hospitals. *BMC Infect Dis* 2016, 16(1): 682.
12. Ostrzyżek A, Stawska-Drzymała W, Klimberg A. Zakażenia *Clostridium difficile* wśród pacjentów ośrodków opieki długoterminowej jako problem kliniczny i epidemiologiczny. *Hygeia Public Health* 2018, 53(4): 327-332.
13. Drekonja D, Reich J, Gezahegn S, et al. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *Ann Intern Med* 2015, 162(9): 630-638.
14. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut* 2017, 66(4): 569-580.
15. Garvey MI, Bradley CW, Wilkinson MAC, Holden E. Can a toxin gene NAAT be used to predict toxin EIA and the severity of *Clostridium difficile* infection? *Antimicrob Resist Infect Control* 2017, 6: 127.
16. Enforcement Policy Regarding Investigational New Drug Requirements for Use of Fecal Microbiota for Transplantation to Treat *Clostridium difficile* Infection Not Responsive to Standard Therapies. <https://www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/vaccines/ucm488223.pdf> (10.12.2018).
17. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol* 2013, 108(4): 478-498.
18. Iqbal U, Anwar H, Karim MA. Safety and efficacy of encapsulated fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2018, 30(7): 730-734.
19. Liubakka A, Vaughn BP. *Clostridium difficile* infection and fecal microbiota transplant. *AACN Adv Crit Care* 2016, 27(3): 324-337.
20. Wang S, Xu M, Wang W, et al. Systematic review: adverse events of fecal microbiota transplantation. *PLoS One* 2016, 11(8): e0161174.