Možnosti terapeutické manipulace se střevní mikrobiotou

Pavel Drastich¹, Lukáš Bajer¹, Miloslav Kverka^{2,3}

¹Klinika hepatogastroenterologie IKEM, Praha

²Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha

³Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha

Souhrn

Střevní mikrobiota, komplexní ekosystém mikroorganismů obývajících střevo, je nezbytná pro správný vývoj řady fyziologických funkcí včetně maturace imunitního systému hostitele. Díky rozvoji nových laboratorních metod byla v nedávné době nalezena u řady chorob porucha její rovnováhy, což poukazuje na její význam pro udržení zdraví jedince. Zároveň to ale ukazuje, že by mohla být cílem terapeutických, anebo dokonce preventivních zásahů. Tyto zásahy zahrnují změnu diety, podávání probiotik, prebiotik či antibiotik, a zejména fekální mikrobiální transplantaci (FMT). Úspěch FMT v léčbě rekurentní infekce *Clostridium difficile* otevřel zájem o její využití i v léčbě dalších onemocnění, která jsou spojována s poruchou mikrobioty, jako je např. ulcerózní kolitida nebo metabolický syndrom.

Klíčová slova: *Clostridium difficile* – dysbióza – fekální mikrobiální transplantace – probiotika – střevní mikrobiota

Possibilities of therapeutic manipulation of the gut microbiota

Summary

Human gut microbiota, complex ecosystem of microbes associated with human gut, is essential for the development of the host's immune system and many other physiological functions. Recently, numerous diseases and syndromes were associated with disruption of this ecosystem thus stressing its importance in maintaining the host's health. Growing evidence suggests that by manipulating the gut microbiota, some of these diseases could be treated or even prevented. These manipulations include changes in diet, use of probiotics, prebiotics, antibiotics and fecal microbiota transplantation (FMT). The successes in FMT treatment of recurrent infection of *Clostridium difficile* led recently to a great interest in extending this treatment modality to other diseases with proven disruption of gut microbiota, such as ulcerative colitis or metabolic syndrome.

Key words: *Clostridium difficile* – dysbiosis – fecal microbial transplantation – microbiota – prebiotics – probiotics

Úvod

Mikroby jsou v centru zájmu medicíny již od poloviny 19. století, kdy Robert Koch poprvé experimentálně prokázal jejich vliv na lidské zdraví. Do nedávné minulosti byl však směr tohoto zájmu zaměřený spíše na původce infekčních onemocnění – patogenní mikroorganismy. Vztah mikroorganismů s makroorganizmem je však mnohem širší a většina mikrobů žijících na povrchu i uvnitř našich těl patří mezi komenzály. Některé z nich nám poskytují užitečné vlastnosti, které vhodně doplňují vlastnosti kódované genetickým kódem našich buněk [1]. Studium mechanismů, jakými mikroby udržují zdraví a jakým způsobem můžeme mikroby využít k příznivému ovlivnění průběhu chorob, je v současnosti předmětem intenzivního výzkumu.

Soubor všech mikrobů, který se nachází u daného jedince, nazýváme mikrobiota (dříve označována jako

mikroflóra) nebo mikrobiom. Přestože všechny tělesné povrchy, vnější i vnitřní, jsou osídleny mikroby, největší část mikrobioty se nachází ve střevě (zejména tlustém). U lidí představuje střevní mikrobiota nesmírně rozsáhlý ekosystém, který se skládá z přibližně 1 000 různých druhů bakterií a zástupců zhruba 5 různých rodů archeí, 66 různých rodů hub, a z velkého množství virů, které patří zejména mezi bakteriofágy [2–4]. Studie na bezmikrobních zvířatech jednoznačně ukázaly, že bez tohoto komplexního ekosystému by ani náš imunitní systém, ani řada dalších fyziologických funkcí nedosáhly svého plného potenciálu [5–7]. Střevo představuje poměrně unikátní ekologickou niku, pro kterou je charakteristická stálá teplota, anaerobní prostředí, přítomnost enzymů, žlučových kyselin a značného množství živin. Základní složení střevní mikrobioty se formuje během prvních 3 let života a je charakterizována domi-

nancí některých tříd kmene *Bacteroidetes* (zejména *Bacteroidia*) a *Firmicutes* (zejména *Clostridia* a *Bacilli*). Vzhledem ke specifickým vlastnostem střeva je zastoupení hlavních složek mikrobioty podobné u všech lidí a má u daného jedince poměrně stabilní složení [8,9]. To však neplatí na nižší taxonomické úrovni, na níž jsou mezi jedinci značné rozdíly a kde během života dochází k výraznější fluktuaci. Mikroby se dokonce podílejí i na synchronizaci biologických hodin s cirkadiánním rytmem a regulují tvorbu tukových zásob [10,11]. K výrazným změnám ve složení střevní mikrobioty pak může dojít např. dlouhodobou změnou diety, infekcí anebo třeba léčbou antibiotiky [12–14].

Na kolonizaci hostitele mikroby se podílí řada faktorů. Kromě faktorů zmiňovaných výše (např. vlastnosti niky, dieta a užívání antibiotik) je složení střevního mikrobiomu ovlivněno přítomností mikrobů v okolí a kolonizací po porodu – významnou úlohu hraje časná kolonizace mikroby při průchodu porodním kanálem. Na straně hostitele hraje významnou úlohu imunitní systém, který u zdravých lidí rychle eliminuje patogenní mikroorganismy a naopak ignoruje mikroby komenzální [15]. V případě selhání imunitního systému musí tuto funkci částečně zastoupit buňky střevního epitelu, které pak „zanedbávají“ absorpci živin. To má za následek doposud nevysvětlitelné hubnutí, které je typické pro pacienty s imunodeficity (např. CVID a AIDS) [16]. Spojení výše popsaných vlastností střeva a reaktivit přirozené a adaptivní imunity umožňují hostiteli ovlivnit kolonizaci jednotlivých částí střeva mikroby [17].

Naopak mikroby značně ovlivňují fungování organismu, a tak není překvapivé, že poruchu složení či funkce střevního mikrobiomu, tzv. dysbiózu, nacházíme u více než 25 různých chorob [18]. Jednou z obvyklých charakteristik dysbiózy je ztráta mikrobiální diverzity, která zhoršuje adaptaci organismu na měnící se prostředí. Tento stav je typický pro náš „západní“ moderní životní styl a mohl by vysvětlit nárůst některých chorob ve vyspělých zemích [19]. Kromě chorob trávicího traktu (např. idiopatické střevní záněty – inflammatory bowel disease/IBD, kolorektální karcinom nebo syndrom dráždivého tračníku) jde kupříkladu o onemocnění metabolická (např. obezita, nealkoholická jaterní steatóza/NonAlcoholic SteatosisHepatis – NASH, diabetes mellitus 2. typu) nebo neurologická a psychiatrická [20–23]. I když je ve většině případů dysbióza u těchto onemocnění dobře prokázána, není obvykle jasné, zda je mikrobiota příčinou, následkem či průvodním jevem daného onemocnění [24]. Je však nutné upozornit, že snížení mikrobiální diverzity je relativní pojem, protože u porovnání s primitivními lovci-sběrači (např. východoafrický kmen Hadza) má střevní mikrobiota zdravých obyvatel vyspělých zemí velice nízkou diverzitu [25].

Střevní bakterie mají také klíčovou roli v metabolismu žlučových kyselin a narušení složení střevní mikrobioty bylo popsáno též u cholestatických jaterních chorob, zejména primární sklerozující cholangitidy (PSC) [26]. Změna střevní mikrobioty tak může ovlivnit enterohepatický oběh žlučových kyselin, a tím i kompozici žluči. Alte-

race složení žluči naopak může vést k selektivnímu tlaku na konkrétní skupiny bakterií, což lze hypoteticky využít i v terapeutických přístupech [27].

Studium střevní mikrobioty

Nový zájem o mikrobiotu je dán nedávným pokrokem v laboratorních technikách a sofistikovaných bioinformatických přístupech, které umožňují studovat celá komplexní mikrobiální společenstva [24]. Tyto nové techniky zahrnují metataxonomii a metagenomiku, které umožňují rychlou analýzu celých mikrobiálních společenstev bez nutnosti kultivace a metatranskriptomiku a metabolomiku pro detailní studium jejich fungování [28]. Nicméně těžištěm studia vlivu mikrobů na zdraví jedince a pro studium interakce mezi mikrobem a hostitelem je gnotobiologie. Gnotobiologie se zabývá studiem organismů žijících v přítomnosti přesně definovaných mikroorganismů (tzv. cíleně kolonizovaná zvířata) nebo bez přítomnosti jakýchkoli mikrobů (tzv. bezmikrobiální zvířata). Takové experimenty umožňují studovat, jak jednotlivé mikroby ovlivňují fyziologické funkce [29,30]. Navíc je možné takto studovat vlastnosti mikrobů v živém organismu, které se mohou významně lišit oproti vlastnostem mikrobů pěstovaných in vitro [31,32].

Možnosti modulace střevní mikrobioty

Střevní mikrobiota je velmi slibným terapeutickým cílem, protože na rozdíl od genetické výbavy jedince je dnes již možné složení mikrobioty aktivně ovlivnit. Manipulace se střevní mikrobiotou by mohla být užitečná v léčbě nejen gastrointestinálních, ale i řady metabolických a neurologických onemocnění. Do spektra modulace s mikrobiotou patří dieta (změna složení potravy), podávání probiotik, prebiotik a antibiotik a fekální mikrobiální transplantace – FMT (Fecal Microbiota Transplantation).

Možnosti ovlivnění mikrobiomu (manipulace):

- dieta
- antibiotika
- probiotika (laktobacily, bifidobakterie, *Escherichia coli*)
- prebiotika (např. fruktooligosacharidy, inulin)
- synbiotika (směs prebiotik a probiotik)
- modifikace žlučových kyselin
- fekální mikrobiální transplantace

Dieta

Dieta je nejdůležitějším faktorem regulujícím střevní mikrobiotu [33]. Epidemiologické studie prokázaly, že dieta ovlivňuje vznik nemocí a že např. nízký příjem vlákniny je spojen s vyšším rizikem trávicích a metabolických chorob [34]. Podávání tzv. FIT diety (semivegetariánská, bohatá na vlákninu, s nízkým obsahem sulfidů a nasycených mastných kyselin, bez přidaného cukru, průmyslově zpracovaných potravin, karagenanů a polysorbátu 80) bylo spojeno u zdravých dobrovolníků se signifikantním zvýšením mikrobiální diverzity a se signifikantním snížením hladiny fekálního kalprotektinu [35]. V posledních letech se ke zlepšení klinických projevů u pacientů

s dráždivým tračníkem často doporučují úpravy diety, a to především restrikce v oblasti fermentovatelných oligosacharidů, disacharidů, monosacharidů a polyolů (tzv. dieta s nízkým obsahem FODMAPs). Recentní studie ukazují prospěšnost této diety u většiny pacientů s dráždivým tračníkem [36]. Dá se předpokládat, že tento efekt diety může být mediován změnou mikrobioty.

Zajímavá je interakce mezi mikrobiotou a dietou při vzniku kolorektálního karcinomu. Dysbióza nebo strava s nízkým obsahem vlákniny mohou vést k nižší produkci metabolitů chránících střevní sliznici (viz dále), a tím k vyššímu riziku vzniku střevního zánětu. Zánět je následně akcelerován toxiny, které vznikají z některých složek potravy činností mikroorganismů a následně dochází k rozvoji chronického zánětu. Ve spojení s genetickou nestabilitou střevních epitelových buněk vede zánět k selhání kontroly proliferace epitelu a vzniku nádoru [37]. Některé bakterie totiž mohou metabolismem prokarcinogenů v potravě produkovat genotoxické látky, které pak způsobí poškození DNA, selhání opravných mechanismů a narušení buněčného cyklu u buněk hostitele [38].

Prebiotika, synbiotika a probiotika

Střevní mikrobiotu je možné ovlivnit přímo, podáváním prebiotik, probiotik anebo jejich kombinací – synbiotik. Prebiotika jsou nestravitelné látky (např. inulin), jejichž konzumace má příznivý fyziologický účinek na hostitele způsobený selektivní stimulací růstu nebo aktivity některých kmenů střevní mikrobioty. Tak se prebiotika dostávají v nezměněné formě do distálních částí trávicího traktu, kde jsou fermentovány bakteriemi. Tím prebiotika nejenom podporují růst některých mikroorganismů, ale fermentací z nich vznikají např. mastné kyseliny s krátkým řetězcem (short-chain fatty acids – SCFA), mezi které patří zejména acetát, propionát a butyrát. SCFA jsou potom významným zdrojem energie pro střevní epitelové buňky, ale mohou mít i další lokální i systémové účinky. Např. propionát nebo butyrát produkovaný mikroby z vlákniny indukuje vznik regulačních buněk (CD4⁺FoxP3⁺ T-lymfocytů) ve stěně tlustého střeva, což výrazně zvyšuje odolnost zvířat k experimentálnímu střevnímu zánětu [39,40]. Na druhou stranu acetát produkovaný mikroby slouží jako signál, který vede ke střádání tuku a metabolickému syndromu [41].

Studie srovnávající evropské děti, které konzumují dietu s nízkým obsahem vlákniny, s africkými dětmi, v jejichž dietě je vyšší zastoupení vlákniny, ukázala, že dieta evropských dětí je provázena méně zdravou mikrobiotou. V druhé skupině v mikrobiotě dominovaly *Bacteroides* spolu s protizánětlivými SCFA. Podávání prebiotik, nebo také stravování s vysokým obsahem vlákniny by takto mohlo vést ke snížení zánětlivých onemocnění u dětí [42]. Navíc bylo navrženo, aby děti, které nemohou být kojené, dostaly prebiotické doplňky, aby se jejich mikrobiota podobala kojeným dětem [42]. V jiné studii s použitím prebiotické oligofruktózy zaznamenala léčená skupina méně relapsů souvisejících s průjemem způsobeným

Clostridium difficile v porovnání s placebovou skupinou. U pacientů užívajících prebiotika došlo k vyššímu zastoupení bifidobakterií ve vzorcích stolice, což potvrdilo účinek oligofruktózy [43]. Naopak některá aditiva, např. disacharid trehalóza, mohou selektivně zlepšovat růst a virulenci některých kmenů *Clostridium difficile*, a tím významně přispívat k epidemii pseudomembranózní kolitidy [44]. Prebiotika mohou snížit skóre klinické aktivity u ulcerózní kolitidy, vést ke snížení rizika agresivního průběhu onemocnění, nebo snížit riziko kolorektálního karcinomu [45]. V malé studii bylo prokázáno, že podávání prebiotika oligofruktózy pacientům s NASH vede ke zlepšení hladiny inzulinu a aminotransferáz [46].

Některé studie u člověka však poukázaly na fakt, že dieta s vysokým obsahem vlákniny nemusí být schopna obnovit zdravou mikrobiotu, jakmile je jednou mikrobiota u člověka ustanovena [42]. Kromě toho mohou prebiotika stimulovat růst potenciálně „prospěšných“ i „škodlivých“ bakterií. Dalším výzkumem je proto nezbytné určit, které prebiotické doplňky jsou optimální [47].

Snaha příznivě ovlivnit lidské zdraví podáváním mikroorganismů v potravě existuje již poměrně dlouho. Za prvního nositele této myšlenky a propagátora probiotických bakterií bývá považován ruský vědec Ilja Mečnikov. Probiotika lze charakterizovat jako živé mikroorganismy, které příznivě ovlivňují zdravotní stav hostitele, pokud jsou podávány v přiměřeném množství [48]. Mezi mikroby s prokázanou probiotickou funkcí patří nejen bakterie mléčného kvašení (laktobacily, bifidobakterie), ale i jiné druhy bakterií (enterokoky, některé kmeny *Escherichia coli*) či některé kvasinky (např. *Saccharomyces boulardi*) [49–51]. Zatím je věnována poměrně malá pozornost specifickým vlastnostem jednotlivých probiotických mikrobů, kterými se od sebe často odlišují i jednotlivé kmeny či izoláty jednoho druhu [52]. Pro jednotlivé nemoci by se tedy měla využívat určitá funkčně definovaná probiotika [48]. Narůstající využití imunosupresivní terapie vede k úvahám o bezpečnosti podávání živých bakterií imunodeficientním jedincům. Zdá se, že v těchto případech by lyzáty bakterií nebo definované komponenty potenciálně prospěšných bakterií byly vhodnějším řešením [53,54].

Klinických studií, které by prokázaly jasný terapeutický efekt podávání probiotik u různých chorob, je zatím bohužel velmi málo. O to méně je pak ještě prací dokládajících schopnost mikrobů vzniku chorob aktivně předcházet. Přesto lze jmenovat alespoň příklady chorobných stavů (především gastrointestinálního traktu), kde léčebné nebo preventivní působení určitých probiotických bakterií bylo na více pracovištích klinickými studiemi jasně prokázáno: jsou to např. rotavirové průjemy, průjem při antibiotické léčbě či pouchitida. Z dosavadních výsledků klinických studií se zdá, že probiotika mají jistý léčebný účinek u pacientů s ulcerózní kolitidou. U pacientů s Crohnovou chorobou však prospěšnost podávání probiotik přesvědčivě prokázána nebyla [55,56].

Využití probiotik je slibnou cestou i v léčbě pacientů s dráždivým tračníkem (irritable bowel syndrome – IBS). Ukázalo se, že některé látky produkované probiotickou bakterií *Escherichia coli* Nissle 1917 příznivě ovlivňují motilitu střeva zvýšením kontraktility buněk hladké svaloviny [57]. Zároveň tato bakterie indukuje tvorbu lidského β -defensinu 2 (antimikrobního peptidu), který chrání střevní sliznici před translokujícími mikroby, a tím zlepšuje bariérovou funkci střeva [58]. Látky produkované během růstu *Lactobacillus rhamnosus* GG chrání buňky hladké svaloviny střeva před ztrátou kontraktility způsobené lipopolysacharid (LPS) [59]. Přímý kontakt některých probiotik (např. *Lactobacillus acidophilus*) s epitelovými buňkami indukuje expresi opioidních a kanabinoidních receptorů u buněk střevní sliznice, a přispívá tak k modulaci vnímání viscerální bolesti [60]. U pacientů s celiakií se předpokládá, že komplementárně s dodržováním bezlepkové diety může podávání probiotik pomoci obnovit poškozenou střevní mikrobiotu, a tím snížit toxicitu gliadinu a následnou aktivaci imunitního systému. Není vyloučeno, že podávání probiotik může hrát roli i v primární prevenci u jedinců s vysokým rizikem vzniku celiakie. Lze očekávat, že teprve data z probíhajících klinických studií přinesou rozhodující odpověď o možnosti ovlivnění vývoje této choroby modifikací střevní mikrobioty. VSL#3, což je směs 8 probiotických mikrobů, je u NAFLD (non alcoholic fatty liver disease) zkoumán nejčastěji. Alisi et al prokázali, že děti s NAFLD mají po 4 měsících léčby VSL#3 signifikantní nižší steatózu než děti kontrolní [61].

Problematika probiotik je umocněna faktem, že většina z nich je deklarována jako potravinové doplňky, pro které platí jiné regulační mechanismy než pro léky. Nelze dobře kontrolovat jejich výrobu a obsah některých probiotik v preparátu není přesně specifikován. Navíc je třeba efekt probiotik vztahovat ke konkrétnímu bakteriálnímu kmeni a jeho dávce. Účinek takového mikroba na určitou chorobu pak musí být ověřen pomocí klinické studie. Bohužel, takových studií je poměrně málo a poměrně často jsou jejich závěry limitované zařazením malého množství pacientů.

Nejnovejším směrem ve využití probiotických bakterií k léčbě střevních chorob je možnost přípravy a aplikace rekombinantních kmenů bakterií, které produkují biologicky aktivní molekuly např. cytokiny s protizánětlivým účinkem [62].

Antibiotika

Antibiotika nepochybně ovlivňují střevní mikrobiotu a jejich použití může být i kontraproduktivní. Dochází mimo jiné k rezistenci na tento typ léčby a ke vzniku onemocnění, které je spojeno s použitím antibiotik, jako je např. pseudomembranózní kolitida. Vztah mezi narušením normální gastrointestinální mikrobioty a antibiotickou terapií a vývojem infekce *Clostridium difficile* je jen jedním z příkladů potenciálních rizik dramaticky ovlivňujících střevní mikroprostředí. Na druhé straně antibiotika představují nejjednodušší a nejpřímější pří-

stup k manipulaci s intestinální mikrobiotou. V případě léčby dráždivého tračníku (IBS) vykazovaly studie s nevstřebatelnými antibiotiky pozitivní výsledky, recentně se zaměřily na používání rifaximinu. Metaanalýza publikovaná v roce 2012 ukázala, že rifaximin u pacientů s IBS byl účinnější než placebo při hodnocení globálních příznaků a nadýmání [63]. Ve studiích zkoumající efekt antibiotik (amoxicilin a vankomycin) na mikrobiotu u obézních nemocných bylo zjištěno, že vankomycin, ale ne již amoxicilin, vedl ke snížení bakteriální diversity, ale 7denní podávání obou antibiotik nevedlo ke klinicky závažnému vlivu na metabolismus u obézních pacientů [64]. Antisteatotický účinek na játra byl prokázán u polymyxinu B, metronidazolu a rifaximinu. Lidskou mikrobiotu mohou negativně ovlivňovat i antibiotika použitá ve veterinární medicíně, která se koncentrují v potravinách vyrobených z takto léčených zvířat. Nejenže se tímto způsobem může kontaminovat strava, ale sekundárně i vodní zdroje a půda.

Fekální mikrobiální transplantace

Patrně nejúspěšnější metodou zahrnující terapeutickou manipulaci s mikrobiotou je fekální mikrobiální transplantace (FMT). FMT je léčebná metoda spočívající v přenosu stolice od zdravého dárce pacientovi, s níž lze obnovit mikrobiální homeostázu střeva. Stolica ze zdravých dárců obsahuje bohatý a komplexní sortiment mikroorganismů, které vyvinuly prospěšný, symbiotický vztah s lidským organismem během milionů let evoluce. První zmínky o FMT se datují do doby před 2 000 let a pocházejí ze staré Číny. Ge Hong popisuje léčbu průjmů a otravy jídlem pomocí FMT [65]. První článek v odborné literatuře o úspěšném použití FMT k léčbě pseudomembranózní kolitidy byl publikován v roce 1958 Eisemanem et al [66]. V posledních letech stoupla incidence infekce *Clostridium difficile*. Tato infekce patří obvykle mezi zoonózní nákazy s významnou morbiditou a mortalitou. Vzhledem k malému efektu antibiotické léčby se začala k léčbě pseudomembranózní kolitidy používat FMT od zdravých dárců a dosáhlo se překvapivě vysoké účinnosti [67]. FMT je dle současných znalostí vysoce efektivní v léčbě rekurentní pseudomembranózní kolitidy. V této indikaci se jedná dnes o standardní, klinicky využitelnou metodu. Principem léčby je napravení „ekologické katastrofy“ způsobené většinou použitím antibiotik s následným přemnožením kmene *Clostridium difficile*. Proto není překvapivé, že i jednorázové či dvojnásobné podání FMT vede k vysoké frekvenci vyléčení (81–94 %). Ostatní uvedené indikace (např. idiopatické střevní záněty, syndrom dráždivého tračníku, jaterní encefalopatie, diabetes mellitus 2. typu, metabolický syndrom, NASH, obezita, ateroskleróza, idiopatická trombocytopenická purpura, roztroušená skleróza, alergie, autismus a další) jsou experimentální a jsou předmětem pouze klinických studií [68]. U pacientů s ulcerózní kolitidou byla po fekální transplantaci prokázána změna složení mikrobioty, u pacientů s diabetem bylo popsáno zlepšení některých parametrů diabetu 2. typu, jsou činěny pokusy o léčbu

obezity. Účinnost tohoto přístupu však u těchto chorob nebyla zatím prokázána, ale je možné předpokládat, že se v této oblasti brzy dočkáme zajímavých výsledků.

FMT je jednoduchá metoda, která však není dosud standardizovaná. V publikovaných studiích jsou velké rozdíly ve zpracování stolice, použitých rozpouštědlech i způsobu homogenizace a filtrace materiálu. Nejčastěji je filtrovaný koktejl asi 50 g čerstvé stolice dárce vpraven do těla příjemce nazogastrickou nebo nazojejunální sondou nebo kanylou při koloskopickém vyšetření, popřípadě formou klyzmatu. Výsledný produkt (fekální transplantát) se nejčastěji užívá čerstvý, nebo ho lze uchovat hluboce zmrazený s glycerolem či lyofilizací k pozdějšímu použití. V poslední době došlo i ke vzniku fekálních dárcovských bank, které shromažďují zmrazenou či lyofilizovanou stolicí od kvalitních dárců. Tento přístup umožňuje širší využití FMT v klinické praxi. Dalším logickým krokem je příprava kapslí s lyofilizovaným či speciálně emulgovaným fekálním obsahem. K zajištění přesunu adekvátní kvantity mikrobioty je však nutno aplikovat najednou velké množství kapslí.

Důležitým aspektem je volba dárce, který představuje stěžejní problém FMT. Otázkou je, ale jak identifikovat ideálního dárce. V této otázce je prováděn intenzivní výzkum, dosud však jen s omezenými výsledky. Správná volba dárce je důležitá jak z hlediska bezpečnosti, tak i efektivity FMT. Největším rizikem FMT je přenos infekce, proto musí být dárce pečlivě vyšetřen. Stejně jako u orgánových transplantací jsou doporučována poměrně rozsáhlá anamnestická, serologická a kultivační vyšetření. Pečlivé vyšetření dárce tudíž představuje nemalou finanční zátěž FMT. FMT je ale při dodržení přísných podmínek vyšetření dárce považována za bezpečnou metodu. Většina pacientů léčená FMT popisuje přechodný průjem nebo zácpu, bolesti a křeče břicha. U IBD pacientů jsou častěji zaznamenávány horečky a krátkodobá elevace zánětlivých parametrů, což nejspíše souvisí s porušenou bariérovou funkcí střevní sliznice. Principem účinku FMT je navození změny stávající mikrobioty. U nemocných s pseudomembranózní kolitidou postačí jednorázová nebo maximálně jednou opakovaná léčba FMT. U ostatních indikací však nejspíše budou nutné opakované a nelze vyloučit, že i dlouhodobé podání FMT.

Autoři jsou podporováni granty Agentury pro zdravotnický výzkum (15–28064A a 16–27449A) a Grantové agentury ČR (16–06326S).

Literatura

1. Gill SR, Pop M, Deboy RT et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312(5778): 1355–1359. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1124234>>.
2. Colognini P, Sacchi P, Zuccaro V et al. Beyond the gut bacterial microbiota: The gut virome. *J Med Virol* 2016; 88(9): 1467–1472. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/jmv.24508>>.
3. Qin J, Li R, Raes J et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464(7285): 59–65. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature08821>>.

4. Hoffmann C, Dollive S, Grunberg S et al. Archaea and fungi of the human gut microbiome: correlations with diet and bacterial residents. *PLoS One* 2013; 8(6): e66019. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0066019>>.
5. Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(5): 1046S–1051S. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/69.5.1046s>>.
6. Kozakova H, Kolinska J, Lajda Z et al. Effect of bacterial monoassociation on brush-border enzyme activities in ex-germ-free piglets: comparison of commensal and pathogenic *Escherichia coli* strains. *Microbes Infect* 2006; 8(11): 2629–2639. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2006.07.008>>.
7. Tlaskalova-Hogenova H, Sterzl J, Stěpánková R et al. Development of immunological capacity under germfree and conventional conditions. *Ann N Y Acad Sci* 1983; 409: 96–113.
8. [Human Microbiome Project Consortium]. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486(7402): 207–214. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature11234>>.
9. Costello EK, Lauber CL, Hamady M et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time. *Science* 2009; 326(5960): 1694–1697. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1177486>>.
10. Thaïs CA, Zeevi D, Levy M et al. Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis. *Cell* 2014; 159(3): 514–529. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.048>>.
11. Wang Y, Kuang Z, Yu X et al. The intestinal microbiota regulates body composition through NFIL3 and the circadian clock. *Science* 2017; 357(6354): 912–916. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.aan0677>>.
12. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C et al. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology* 2010; 156(pt 11): 3216–3223. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.040618-0>>.
13. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW et al. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 2012; 148(6): 1258–1270. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.035>>.
14. O'Toole PW, Jeffery IB. Gut microbiota and aging. *Science* 2015; 350(6265): 1214–1215. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.aac8469>>.
15. Palm NW, de Zoete MR, Cullen TW et al. Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. *Cell* 2014; 158(5): 1000–1010. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.08.006>>.
16. Shulzhenko N, Morgun A, Hsiao W et al. Crosstalk between B lymphocytes, microbiota and the intestinal epithelium governs immunity versus metabolism in the gut. *Nat Med* 2011; 17(12): 1585–1593. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nm.2505>>.
17. Bevins CL, Salzman NH. The potter's wheel: the host's role in sculpting its microbiota. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(22): 3675–3685. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00018-011-0830-3>>.
18. de Vos WM, de Vos EA. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutr Rev* 2012; 70(Suppl 1): S45–S56. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00505.x>>.
19. Mosca A, Leclerc M, Hugot JP. Gut Microbiota Diversity and Human Diseases: Should We Reintroduce Key Predators in Our Ecosystem? *Front Microbiol* 2016; 7: 455. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.00455>>.
20. McLean MH, Dieguez D Jr, Miller LM et al. Does the microbiota play a role in the pathogenesis of autoimmune diseases? *Gut* 2015; 64(2): 332–341. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308514>>.
21. Duboc H, Rajca S, Rainteau D et al. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut* 2013; 62(4): 531–539. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302578>>.
22. Wu N, Yang X, Zhang R et al. Dysbiosis signature of fecal microbiota in colorectal cancer patients. *Microb Ecol* 2013; 66(2): 462–470. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00248-013-0245-9>>.

23. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* 2012; 13(10): 701–712. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrn3346>>.
24. Kverka M, Tlaskalova-Hogenova H. Intestinal Microbiota: Facts and Fiction. *Dig Dis* 2017; 35(1–2): 139–147. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1159/000449095>>.
25. Rampelli S, Schnorr SL, Consolandi C et al. Metagenome Sequencing of the Hadza Hunter-Gatherer Gut Microbiota. *Curr Biol* 2015; 25(13): 1682–1693. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2015.04.055>>.
26. Bajer L, Kverka M, Kostovcik M et al. Distinct gut microbiota profiles in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2017; 23(25): 4548–4558. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v23.i25.4548>>.
27. Jia W, Xie G, Jia W. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2018; 15(2): 111–128. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2017.119>>.
28. Morgan XC, Huttenhower C. Meta'omic analytic techniques for studying the intestinal microbiome. *Gastroenterology* 2014; 146(6): 1437–1448. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.049>>.
29. Tlaskalova-Hogenova H et al. Chapter 8 – Gnotobiology and the Study of Complex Interactions between the Intestinal Microbiota, Probiotics, and the Host. In: Mestecky J, Strober W, Russel MW (eds). *Mucosal Immunology*. 4th ed. Academic Press: Boston 2015: 109–133. ISBN 978–0124158474.
30. Stepankova R, Powrie F, Kofronova O et al., Segmented filamentous bacteria in a defined bacterial cocktail induce intestinal inflammation in SCID mice reconstituted with CD45RBhigh CD4+ T cells. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13(10): 1202–1211. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/ibd.20221>>.
31. Dalhoff A. Differences between bacteria grown in vitro and in vivo. *J Antimicrob Chemother* 1985; 15(Suppl A): 175–195.
32. Marteyn B, Gazi A, Sansonetti P. Shigella: a model of virulence regulation in vivo. *Gut Microbes* 2012; 3(2): 104–120. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.4161/gmic.19325>>.
33. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(33): 14691–14696. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1005963107>>.
34. Marchesi JR, Adams DH, Fava F et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut* 2016; 65(2): 330–339. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2015-309990>>.
35. Sabino J, Vieira-Silva S, Machiels K et al. Therapeutic Manipulation of the Gut Microbiota Through Diet to Reduce Intestinal Inflammation: Results from the FIT Trial. *Gastroenterology* 2017; 152(5 Suppl 1): S1. Dostupné z DOI: <[https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(17\)30385-2](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(17)30385-2)>.
36. Nanayakkara WS, Skidmore PM, O'Brien L et al. Efficacy of the low FODMAP diet for treating irritable bowel syndrome: the evidence to date. *Clin Exp Gastroenterol* 2016; 9: 131–142. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.2147/CEG.S86798>>.
37. Tlaskalova-Hogenova H, Vannucci L, Klimesova K et al. Microbiome and colorectal carcinoma: insights from germ-free and conventional animal models. *Cancer J* 2014; 20(3): 217–224. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1097/PPO.0000000000000052>>.
38. Gagniere J, Raisch J, Veziant J et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2016; 22(2): 501–518. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v22.i2.501>>.
39. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013; 504(7480): 446–450. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature12721>>. Erratum in *Nature* 2014; 506(7487): 254.
40. Smith PM, Howitt MR, Panikov N et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science* 2013; 341(6145): 569–573. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1126/science.1241165>>.
41. Perry RJ, Peng L, Barry NA et al. Acetate mediates a microbiome-brain-beta-cell axis to promote metabolic syndrome. *Nature* 2016; 534(7606): 213–217. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature18309>>.
42. Vieira AT, Fukumori C, Ferreira CM. New insights into therapeutic strategies for gut microbiota modulation in inflammatory diseases. *Clin Transl Immunology* 2016; 5(6): e87. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/cti.2016.38>>.
43. Lewis S, Burmeister S, Brazier J. Effect of the prebiotic oligofructose on relapse of Clostridium difficile-associated diarrhea: a randomized, controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3(5): 442–448.
44. Collins J, Robinson C, Danhof H et al. Dietary trehalose enhances virulence of epidemic Clostridium difficile. *Nature* 2018; 553(7688): 291–294. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nature25178>>.
45. Wong C, Harris PJ, Ferguson LR Potential Benefits of Dietary Fibre Intervention in Inflammatory Bowel Disease. *Int J Mol Sci* 2016; 17(6): pii: E919. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijms17060919>>.
46. Daubioul CA, Horsmans Y, Lambert P et al. Effects of oligofructose on glucose and lipid metabolism in patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59(5): 723–726. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602127>>.
47. Tran J, Wilson K, Plebanski M et al. Manipulating the microbiota to improve human health throughout life. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2017; 111(9): 379–381. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/trstmh/trx068>>.
48. FAO/WHO. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. 2001, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization: Cordoba (Argentina).
49. Reid G. Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2016; 30(1): 17–25. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2015.12.001>>.
50. Dinleyici EC, Kara A, Dalgic N et al. Saccharomyces boulardii CNCM I-745 reduces the duration of diarrhoea, length of emergency care and hospital stay in children with acute diarrhoea. *Benef Microbes* 2015; 6(4): 415–421. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3920/BM2014.0086>>.
51. Wells JM, Rossi O, Meijerink M et al. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(Suppl 1): 4607–4614. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.100092107>>.
52. Spinler JK, Sontakke A, Hollister EB et al. From prediction to function using evolutionary genomics: human-specific ecotypes of Lactobacillus reuteri have diverse probiotic functions. *Genome Biol Evol* 2014; 6(7): 1772–1789. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/gbe/evu137>>.
53. Zakostelska Z, Kverka M, Klimesova K et al. Lysate of probiotic Lactobacillus casei DN-114 001 ameliorates colitis by strengthening the gut barrier function and changing the gut microenvironment. *PLoS One* 2011; 6(11): e27961. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0027961>>.
54. Quevrain E, Maubert MA, Michon C et al. Identification of an anti-inflammatory protein from Faecalibacterium prausnitzii, a commensal bacterium deficient in Crohn's disease. *Gut* 2016; 65(3): 415–425. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307649>>.
55. Fric P. Probiotics in gastroenterology. *Z Gastroenterol*. 2002; 40(3): 197–201. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1055/s-2002-22328>>.
56. Hansen JJ, Sartor RB. Therapeutic Manipulation of the Microbiome in IBD: Current Results and Future Approaches. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2015; 13(11): 105–120. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11938-014-0042-7>>.
57. Bar F, Von Koschitzky H, Roblick U et al. Cell-free supernatants of Escherichia coli Nissle 1917 modulate human colonic motility: evidence from an in vitro organ bath study. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21(5): 559–566. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2982.2008.01258.x>>.
58. Mondel M, Schroeder BO, Zimmermann K et al. Probiotic E. coli treatment mediates antimicrobial human beta-defensin synthesis and fecal excretion in humans. *Mucosal Immunol* 2009; 2(2): 166–172. <<http://dx.doi.org/10.1038/mi.2008.77>>.

59. Cicienia A, Santangelo F, Gambardella L et al. Protective Role of Postbiotic Mediators Secreted by *Lactobacillus rhamnosus* GG Versus Lipopolysaccharide-induced Damage in Human Colonic Smooth Muscle Cells. *J Clin Gastroenterol* 2016; 50(Suppl 2): Proceedings from the 8th Probiotics, Prebiotics & New Foods for Microbiota and Human Health meeting held in Rome, Italy on September 13–15, 2015: S140–S144. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1097/MCG.0000000000000681>>.
60. Rousseaux C, Thuru X, Gelot A et al. *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nat Med* 2007; 13(1): 35–37. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/nm1521>>.
61. Alisi A, Bedogni G, Baviera G et al. Randomised clinical trial: The beneficial effects of VSL#3 in obese children with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39(11): 1276–1285. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/apt.12758>>.
62. Braat H, Rottiers P, Hommes DW et al. A phase I trial with transgenic bacteria expressing interleukin-10 in Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4(6): 754–759. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2006.03.028>>.
63. Menees SB, Maneerattannaporn M, Kim HM et al. The efficacy and safety of rifaximin for the irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107(1): 28–35; quiz 36. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2011.355>>.
64. Reijnders D, Goossens GH, Hermes GD et al. Effects of Gut Microbiota Manipulation by Antibiotics on Host Metabolism in Obese Humans: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Cell Metab* 2016; 24(1): 63–74. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2016.06.016>>.
65. Zhang F, Luo W, Shi Y et al. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1755; author reply p.1755–6. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2012.251>>.
66. Eiseman B, Silen W, Bascom GS et al. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958; 44(5): 854–859.
67. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013; 368(5): 407–415. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1205037>>.
68. Březina J, Bajer L, Špičák J et al. Fekální mikrobiální transplantace u idiopatických střevních zánětů. *Gastroent Hepatol* 2016; 70(1): 51–56.

doc. MUDr. Pavel Drastich, Ph.D.

✉ padr@ikem.cz

Klinika hepatogastroenterologie IKEM, Praha

www.ikem.cz

Doručeno do redakce: 4. 2. 2018

Přijato po recenzi: 18. 4. 2018