

# Záněť a mikrobiom

Flavobiotika, která mění mikrobiom, regenerují střevní bariéru a aktivují imunitní systém



## KLINICKÁ STUDIE

- 12-týdenní
- paralelní
- randomizovaná
- dvojitě zaslepená
- placebem kontrolována
- na souboru 50 pacientů

V roce 2019 byla provedena klinická studie s denní dávkou 500 mg Mikrobiom+®, aby se vyhodnotil přínos pro složení střevního mikrobiomu. Výsledky ukázaly významnou změnu ve složení mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA). Jedná se o přímý vliv změny složení střevního mikrobiomu.

Kromě toho se prokázal silný trend ke snížení fekálního kalprotektinu, který prokázal imunomodulaci. Oba výsledky posilují hypotézu, že citrusové polyfenolové sloučeniny jsou schopny modulovat složení a funkci střevní mikrobioty, čímž podporují zdraví střev a hostitele prostřednictvím svých protizánětlivých účinků.

## Flavobiotikum: hesperidin+naringin

Flavobiotikum v této studii je z citrusových plodů – pomaranče a grapefruitu. Obsahuje specificky aktivní flavonoidy a jejich prostřednictvím přímo využívá potenciál střevního mikrobiomu a **zlepšuje funkci střevní bariéry**. Je speciálně navrženo tak, aby pozitivně podporovalo činnost **imunitního systému**.



## Úvod

Rozvinuté země úspěšně bojují s infekčními nemocemi, avšak prevalence metabolických, kardiovaskulárních a autoimunitních chorob roste (1).

Nárůst zánětlivých a autoimunitních onemocnění souvisí se změněnou „západní“ stravou, což je důležitý faktor ovlivňující střevní ekosystém, který může být velmi důležitý při rozvoji lidských chorob. Nedávné údaje naznačují, že různé polyfenolové sloučeniny, pocházející například z citrusů, jsou schopny modulovat strukturu a funkci střevního mikrobiomu, čímž příznivě ovlivňují zdraví střev (2).

Flavobiotikum je extrahováno z citrusových plodů s vynikající stabilitou a vysokou koncentrací dvou základních flavonoidů: **hesperidinu** a **naringinu**. Výhody Flavobiotika byly hodnoceny v klinické studii, která prokázala dvojitý působení složky:

1. Přímou účinkují aktivní flavonoidy ve střevním lumenu tím, že **chrání a výrazně zlepšují funkci střevní bariéry**.

2. Aktivují imunitní systém a snižují zánět střeva s pozitivní změnou složení mikrobiomu: ve výsledku se **zvýšila hladina butyrátu** ( $P = 0,031$ ) a snížila se hladina kalprotektinu, což naznačuje nižší zatížení patogeny.

## Cíle

Primárním cílem klinické studie bylo prozkoumat účinek 12-týdenní suplementace Flavobiotika na střevní ekosystém a na hladiny kalprotektinu u jedinců s nadváhou a nevyváženým lipidovým profilem.

Jelikož účastníci měli nadváhu, pravděpodobně se u nich projevila dysbióza na úrovni mikrobiomu a nízký chronický zánět ve střevě.

## Metodika

12-týdenní randomizovaná, paralelní, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie byla navržena tak, aby zkoumala účinky denní dávky 500 mg Flavobiotika na složení střevního mikrobiomu a hladiny kalprotektinu. Studie se uskutečnila na skupině 50 subjektů s nadváhou, a tedy se změněnou mikrobiotou (tabulka 1). Každý subjekt absolvoval tři testovací dny. Po celonočním hladovění odebrali subjektům vzorek stolice v první a poslední testovací den. Během všech tří testovacích dnů byl měřen krevní tlak.

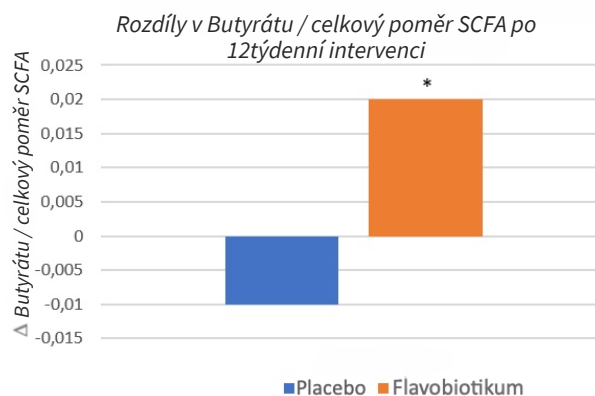
	Celkový soubor (n = 50)	Placebo (n = 27)	Flavobiotikum (n = 23)
Věk	51 ± 13	50 ± 13	52 ± 11
Pohlaví	18/32	9/14	9/18
WHR index	0.93 ± 0.07	0.91 ± 0.07	0.94 ± 0.07
BMI, kg/m <sup>2</sup>	30.8 ± 3.8	31.4 ± 4.2	30.0 ± 3.2

Tabulka 1. Základní charakteristika účastníků studie

## Výsledky

### 1) Mastné kyseliny s krátkým řetězcem

Po 12 týdnech denního příjmu Flavobiotika se podíl butyrátu na celkovém SCFA významně zvýšil ( $P = 0,031$ ) (obrázek 1).

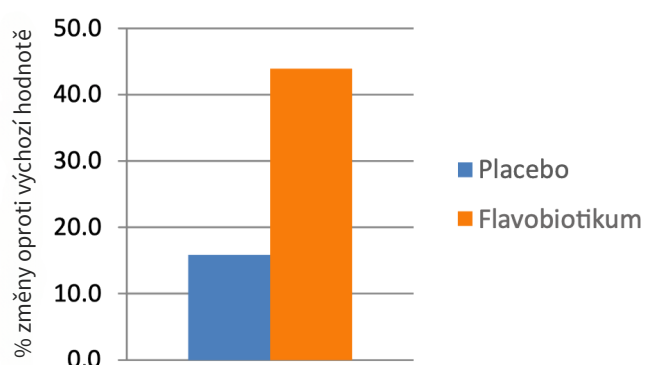


Obrázek 1. Rozdíl v poměru Butyrátu/mastných kyselin s krátkým řetězcem

Kromě toho se poměr butyrátu k acetátu významně zvýšil ve skupině Flavobiotika ve srovnání se skupinou s placebem ( $P = 0,020$ ).

## 2) Změny v mikrobiomu

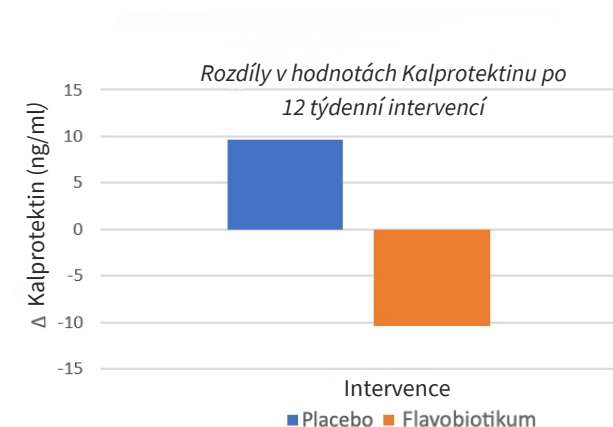
Po 12-týdenní intervenci mezi skupinami Flavobiotika a placebem byl pozorován nárůst butyrát-produkujícího klástru ***Clostridium cluster XIVa*** se změnou oproti výchozí hodnotě o 43,9 % v intervenci ve srovnání s 15,9 % ve skupině s placebem. (Obrázek 2).



Obrázek 2. Relativní rozdíly v množství *Clostridium clusteru XIVa* (% změny oproti výchozí hodnotě) mezi placebem a Flavobiotikem po 12 týdnech.

## 3) Hladiny kalprotektinu

Po 12 týdnech denní suplementace Flavobiotikem se ukázalo silné snížení fekálního kalprotektinu ve srovnání se skupinou s placebem ( $P = 0,058$ ) (obrázek 3). Toto snížení odráží snížení zátěže patogeny ve střevě.



Obrázek 3. Rozdíly v hodnotách kalprotektinu

# IN-VITRO STUDIE

## Cíle

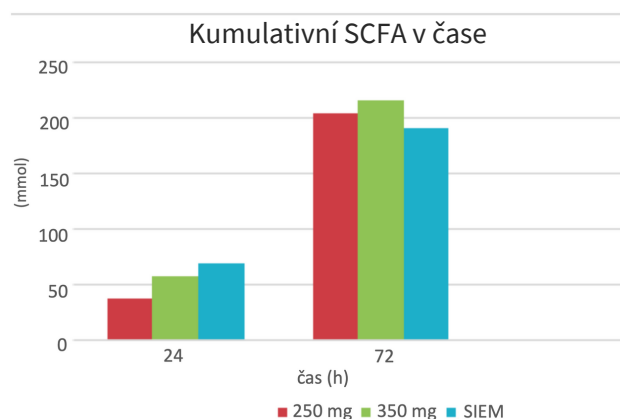
Cílem *in vitro* studie bylo pozorovat okamžitý účinek Flavobiotika při nižších dávkách v modelu TIM-2. Model TIM-2 je dobře ověřený *in-vitro* model tlustého střeva.

V tomto kontrolovaném experimentu byly dvě různé dávky (250 mg a 350 mg) Flavobiotika podávány po 72 hodin intestinálnímu modelu TIM-2 obsahujícímu reprezentativní vzorek lidské mikrobioty od 6 zdravých a starších dobrovolníků.

## Výsledky

### 1) Účinek na mastné kys. s krátkým řetězcem

Po denním příjmu Flavobiotika během 72 hodin byl pozorován nárůst SCFA v průběhu času. Dávka 350 mg způsobila největší zvýšení (obrázek 4).



Obrázek 4. Efekt na celkové kyseliny s krátkým řetězcem - SCFA

### 2) Rozdíl v butyrátu, acetátu a propionátu

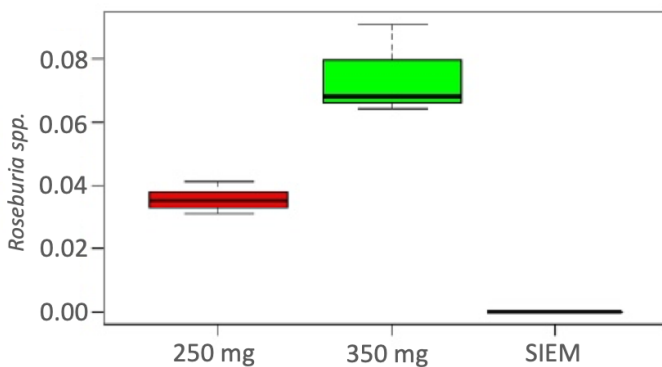
Po 12 týdnech denního příjmu Flavobiotika byl v průběhu času pozorován nárůst butyrátu, acetátu a propionátu, přičemž acetát vykazoval největší kvantitativní nárůst ve srovnání s kontrolou.

**Butyrát a propionát** regulují imunitní systém a jsou také důležitým modulátorem sytosti.

**Acetát** hraje důležitou roli při potlačování chuti k jídlu tím, že stimuluje uvolňování hormonů sytosti PYY a GLP-1.

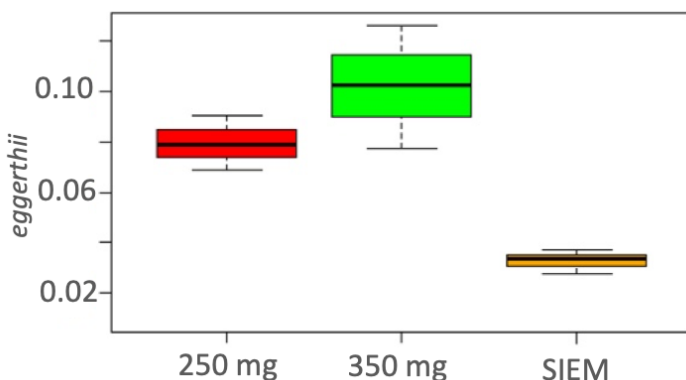
### 3) Účinek na složení mikrobioty

**Roseburia spp.** je člen clusteru Clostridium XIVa a je to butyrát produkující bakteriální kmen, který je spojen s redukcí hmotnosti a snížením inzulínové rezistence (prediabetes). Po denním příjmu Flavobiotika během 12 týdnů bylo pozorováno významné zvýšení **Roseburia spp.** v mikrobiomu (obrázek 5).



Obrázek 5. Efekt na *Roseburia spp.*

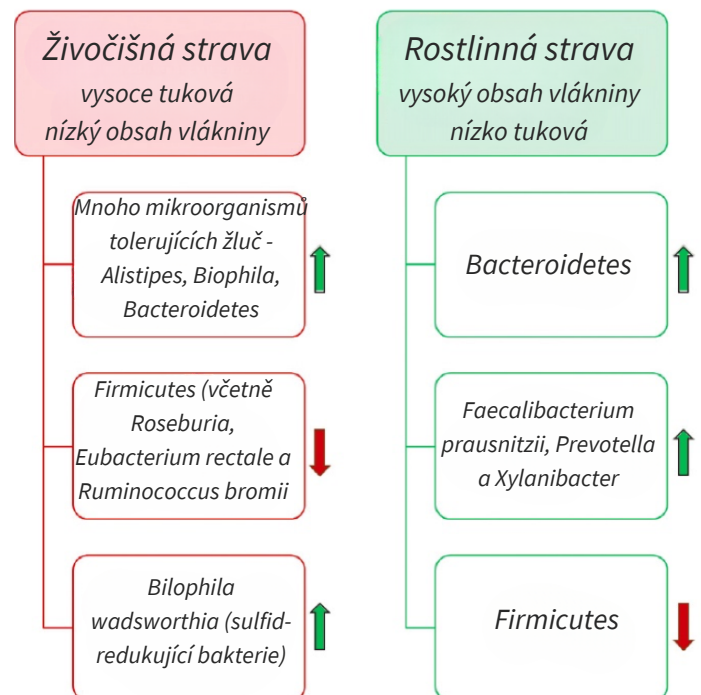
**B. eggerthii** je druh v rámci kmene bacteroidetes, přesněji kmen bacteroides fragilis, který hraje roli při produkci acetátu a prevenci střevních zánětů. Jak je znázorněno na obrázku níže, po denním příjmu Flavobiotika došlo k významnému zvýšení **B. eggerthii** v mikrobiomu (obrázek 6).



Obrázek 6. Efekt na *B. eggerthii*

### 4) Změna mikrobiomu na podobný, jak pozorujeme při rostlinné stravě

Na kmenové úrovni vedla intervence s Flavobiotikem k relativnímu zvýšení Bacteroidetes a relativnímu snížení Firmicutes. Takový posun v poměru Bacteroidetes/Firmicutes je často spojen s rostlinnou stravou, která má obvykle vysoký obsah vlákniny a nízký obsah tuku. Podobně nárůst **Roseburia spp.** obrací trend, který obvykle pozorujeme při živočišné stravě.



Obrázek 7. Typická zvýšení a snížení v mikrobiotu při živočišné a rostlinné stravě. Od: Kumar et al, Výživa a zdravé stárnutí (2016)



## DOPAD NA IMUNITNÍ SYSTÉM

V tlustém střevě sídlí více než 80 % imunitních buněk a je jediným největším orgánem s přímou funkcí v našem imunitním systému.

Flavobiotikum uplatňuje své pozitivní účinky právě v této důležité části našeho imunitního systému několika způsoby:

### 1) Zprostředkovává změnu mikrobioty

*In-vitro* studie ukazují, že Flavobiotikum může významně modulovat střevní mikrobiotu.

Ovlivňuje růst specifických bakteriálních skupin, zejména ***Clostridium cluster XIVa***, schopných poskytovat zdravotní benefity prostřednictvím produkce SCFA (např. butyrát, acetat, propionát).

### 2) Zlepšuje funkce střevní bariéry

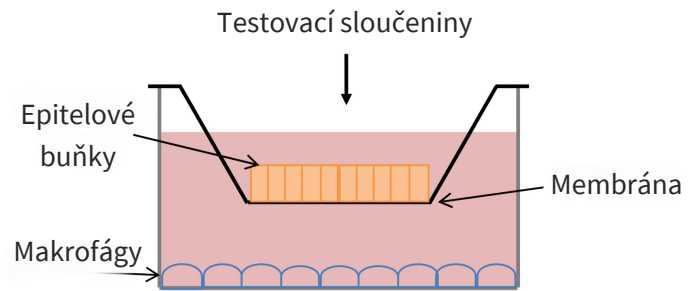
*In vitro* pokusy ukázaly, že butyrát snižuje permeabilitu a zlepšuje funkci střevní bariéry (měřeno jako transepiteliální rezistence). Specificky butyrát zprostředkovává tvorbu proteinů těsných spojení (tight junctions), jako jsou kladiny a okludiny, prostřednictvím AMPK.

Tvorba proteinů těsných spojení je dynamický proces, který je rozhodující při vytváření a udržování funkce střevní bariéry.

### 3) Snižuje zánět střev

Jak se ukázalo v první klinické studii, kalprotektin – klinický marker zánětu střev – se snížil v důsledku konzumace Flavobiotika.

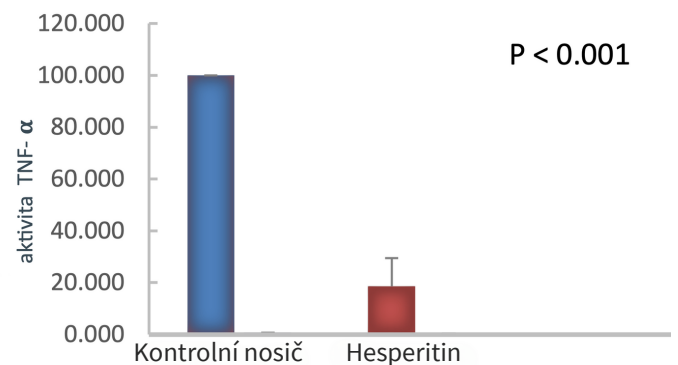
Ve spolupráci s Maastrichtskou univerzitou byla provedena mechanistická studie na inovativním 2-rozměrném *in-vitro* modelu buněčných linií Caco2 kombinovaných s makrofágy stimulovanými LPS (obrázek 8).



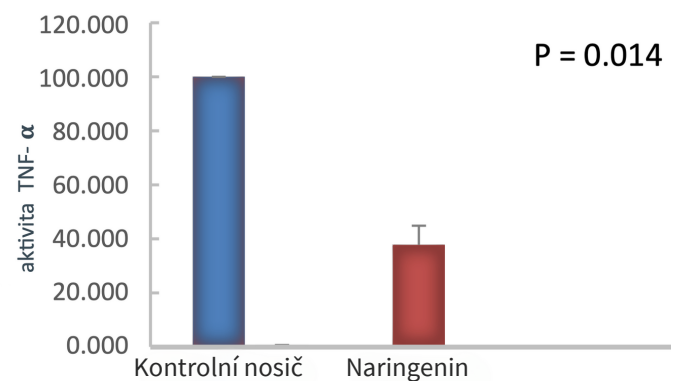
Obrázek 8. Společná kultivace Caco2 a makrofágů

Účelem studie bylo zjistit, zda specifické metabolity flavonoidů ve Flavobiotiku mají vliv na mediátory zánětlivých reakcí, jako je TNF- $\alpha$ .

**Hesperetin** a **naringenin**, oba přímé metabolity Flavobiotika, mají přímý a významný vliv na uvolňování TNF- $\alpha$ . Snižují uvolňování TNF- $\alpha$  lze působit proti chronickému zánětu nízkého stupně ve střevě (obrázek 9 a 10).



Obrázek 9. Účinek hesperetinu na aktivitu TNF- $\alpha$



Obrázek 10. Účinek naringenin na aktivitu TNF- $\alpha$ .

## Závěr

Flavobiotikum podporuje zdraví střev a hostitele svými protizánětlivými účinky v důsledku jeho schopnosti modulovat složení střevního mikrobiomu. Významný posun od acetátu ke zdraví prospěšnému butyrátu a výrazné zvýšení podílu butyrátu na celkovém SCFA jsou výsledkem změněného složení mikrobiomu.

Butyrát pozitivně ovlivňuje funkci střevní bariéry a snižuje zánět střev, což se odráží v nižších hladinách kalprotektinu. Proto je Flavobiotikum prvotřídním prostředkem pro posílení střevní bariéry a zvýšení imunity.

## Reference

- 1) Manzel A, Muller DN, Hafler DA, Erdman SE, Linker RA, Kleinewietfeld M. Role of “Western diet” in inflammatory autoimmune diseases. *Current allergy and asthma reports*. 2014;14(1):404.
- 2) Romier B, Schneider YJ, Larondelle Y, During A. Dietary polyphenols can modulate the intestinal inflammatory response. *Nutr Rev*. 2009;67(7):363-78.
- 3) Guinane CM, Cotter PD. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2013;6(4):295-308.
- 4) Canani RB, Costanzo MD, Leone L, Pedata M, Meli R, Calignano A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2011;17(12):1519-28.
- 5) Stevens Y, Rymenant EV, Grootaert C, Camp JV, Possemiers S, Masclee A, et al. The Intestinal Fate of Citrus Flavanones and Their Effects on Gastrointestinal Health. *Nutrients*. 2019;11(7):1464.
- 6) Wang, Xiaozhen, Xican Li, and Dongfeng Chen. 2011. “Evaluation of Antioxidant Activity of Isoferulic Acid in Vitro.” *Natural product communications* 6(9):1285–88. Retrieved December 13, 2017 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21941899>).