



Przegląd badań klinicznych

Zrozumienie związku między mikrobiomem żołądkowo-jelitowym a stresem

KLUCZOWE ZAGADNIENIA

- **Prebiotyczna mieszanka pulpy buraczanej i siemienia lnianego pozwoliła uzyskać te same stężenia korzystnych bakterii w kale, jakie uzyskiwane są z użyciem powszechnie przepisywanych suplementów probiotycznych.**
- **Wykazano, że hydrolizat białka mleka, zwany również alfa-kazozepiną, ogranicza objawy behawioralne związane z niepokojem u psów.**

WPROWADZENIE

Mikrobiom żołądkowo-jelitowy (GI) to ekosystem składający się z mikrobiot (żywych bakterii, pierwotniaków, wirusów i grzybów), które żyją w symbiozie z układem pokarmowym żywiciela.

Ta relacja ma bezpośredni wpływ na komórki jelit, jelitową barierę śluzówkową, układ odpornościowy żywiciela oraz na neurony.^{1,2} Probiotyki to żywe mikroorganizmy, które zapewniają żywicielowi korzyści zdrowotne, jeśli są podane w odpowiednich ilościach, a prebiotyki to ulegające fermentacji składniki (np. rozpuszczalne włókna), które zapewniają żywicielowi korzyści zdrowotne, zmieniając skład mikrobiomu żołądkowo-jelitowego.³ Wykazano, że zarówno probiotyki jak i prebiotyki mają pozytywny wpływ na stan zdrowia żołądka i jelit, zmieniając mikrobiom.³

Oś jelitowo-mózgowa to połączenie komunikacyjne między centralnym układem nerwowym (CUN) a przewodem pokarmowym.² Rosnąca liczba dowodów wskazuje, że narażenie na stres to czynnik ryzyka w patogenezie pewnych schorzeń układu pokarmowego.² Nieodpowiednia lub nienormalna reakcja na stres, jak ta

występująca w zaburzeniach lękowych, prowadzi do zaburzeń w osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (PPN). Zmiany w układzie pokarmowym obejmują ograniczenie opróżniania żołądka, zmiany mikrobiomu oraz zwiększoną ruchliwość i przepuszczalność jelit, a także wrażliwość trzewną.² Wynikające z tego objawy kliniczne obejmują wymioty, biegunkę i dyskomfort brzuszny.

Spożywanie hydrolizatu białka mleka, zwanego również hydrolizowaną kazeiną (powstającą w wyniku hydrolizy białka mleka z udziałem trypsyny) jest kojarzone ze znacznym łagodzeniem objawów stresu w modelach niepokoju u psów, kotów, gryzoni i ludzi.⁴⁻⁶ Dokładny mechanizm tego efektu łagodzącego niepokój nie jest znany, ale może on odbywać się za pośrednictwem kompleksu receptorowego GABA (kwasu gamma-aminomasłowego)/benzodiazepiny.⁴ Ponieważ stres uznaje się za ważny czynnik w tzw. osi jelitowo-mózgowej, ograniczenie stresu może pomagać w ograniczaniu niekorzystnych zmian w przewodzie pokarmowym.²

BADANIA

Wpływ dostępnych w sprzedaży probiotyków oraz prebiotycznej mieszanki błonnika na mikroflorę przewodu pokarmowego zdrowych psów

CEL BADANIA

Celem tego badania było stwierdzenie, czy mieszanka błonnika prebiotycznego, zawierająca pulpę buraczaną oraz siemię lniane, zwiększa stężenie korzystnych bakterii w kale zdrowych psów w porównaniu z wpływem podawania probiotyków FortiFlora™ oraz Prostora™ Max.

PRZEBIEG BADANIA

Dwadzieścia dorosłych psów rasy Beagle (10 samic, 10 samców, średni wiek: 4 lata) było karmione karmą kontrolną (Hill's™ Science Diet™ Adult Canine) przez 4 tygodnie. Psy były karmione tak, aby utrzymać bieżącą wagę ciała. Na początku tego okresu zbierano świeży kał przez 4 dni i zamrożono zbiorczą próbkę odniesienia dla potrzeb analizy PCR (reakcji łańcucha polimerazy) bakterii. Po 4-tygodniowym okresie karencji (pozbywania się z ustroju składników karmy), psy zostały losowo przydzielone do jednej z 4 grup na okres 2 tygodni na zasadzie kwadratu łacińskiego. Grupy składały się z karmy kontrolnej, karmy kontrolnej+FortiFlora™, karmy kontrolnej+Prostora™ Max oraz karmy kontrolnej+prebiotycznej mieszanki błonnika dodanej w celu uzyskania stężenia

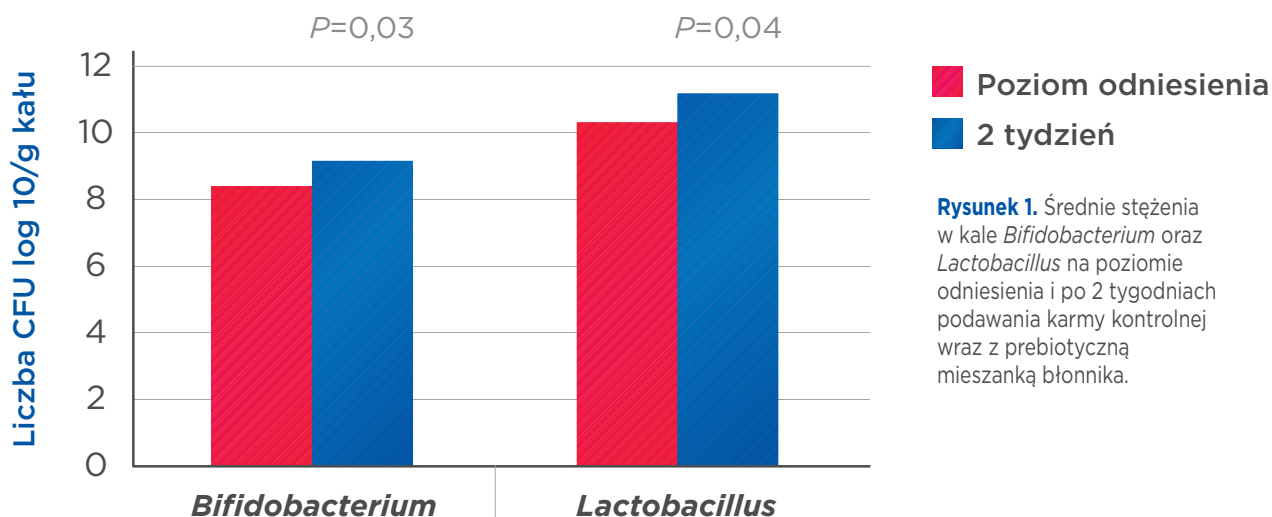
2,5% pulpy buraczanej oraz 0,6% siemienia lnianego w suchej masie (DMB). FortiFlora™ oraz Prostora™ Max były podawane doustnie w dawce i z częstotliwością zalecanymi przez producentów. Świeży kał był zbierany przez ostatnie 4 dni okresu 2 tygodni dla każdej z grup, a zbiorcza próbka została zamrożona dla potrzeb analizy PCR bakterii. Kał został przeanalizowany za pomocą bakteryjnego PCR w Laboratorium Weterynaryjnym Uniwersytetu w Illinois (University of Illinois Animal Science Laboratory). Wyniki były uznawane za znaczące, gdy $P < 0,05$.

WYNIKI

W grupie z mieszanką błonnika prebiotycznego wystąpił znaczny wzrost stężenia w kale *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus*, wyrażonego w jednostkach tworzących kolonie (CFU) log 10/gramów kału, po dwóch tygodniach w porównaniu do poziomu odniesienia (odpowiednio $P=0,03$ i $0,04$) (Rysunek 1). Wyniki dla średniego stężenia w kale *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus* dla każdej z grup przedstawia (Tabela 1).

WNIOSKI I ZNACZENIE KLINICZNE

Przetestowana prebiotyczna mieszanka błonnika pulpy buraczanej i siemienia lnianego spowodowała powstanie stężenia korzystnych bakterii w kale porównywalnego do uzyskiwanego w wyniku stosowania powszechnie używanych suplementów probiotycznych.



Rysunek 1. Średnie stężenia w kale *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus* na poziomie odniesienia i po 2 tygodniach podawania karmy kontrolnej wraz z prebiotyczną mieszanką błonnika.

Grupa	Bifidobacterium w kale CFU log 10/g kału			Lactobacillus w kale CFU log 10/g kału		
	Poziom odniesienia	2 tygodnie	Wartość P	Poziom odniesienia	2 tygodnie	Wartość P
Prebiotyczna mieszanka błonnika	8,3	9,1	0,03	10,3	11,1	0,04
FortiFlora™	8,3	9,3	<0,01	10,3	11,3	0,01
Prostora™ Max	8,3	9,6	<0,01	10,3	11,5	<0,01
Grupa kontrolna	8,4	8,5	0,58	10,4	10,5	0,67

Tabela 1. Średnie stężenia w kale *Bifidobacterium* oraz *Lactobacillus* dla karmy kontrolnej+prebiotycznej mieszanki błonnika, karmy kontrolnej+FortiFlora™, karmy kontrolnej+Prostora™ Max oraz grup karmy kontrolnej na poziomie odniesienia i po 2 tygodniach terapii. Wartości *P* oznaczają różnicę między poziomem odniesienia a poziomem w 2 tygodniu.

Wpływ alfa-kazozepiny (Zylkene) w porównaniu z chlorowodorkiem selegiliny (Selgian, Anipryl) na zaburzenia lękowe u psów⁵

CEL BADANIA

Celem badania było stwierdzenie, czy naturalny czynnik biologiczny - alfa-kazozepina (hydrolizat białka mleka) ma taki sam efekt łagodzenia niepokoju, co selegilina, inhibitor monoaminooksydazy (MAOI) stosowany do leczenia zaburzeń lękowych i zaburzeń kognitywnych u psów.

PRZEBIEG BADANIA

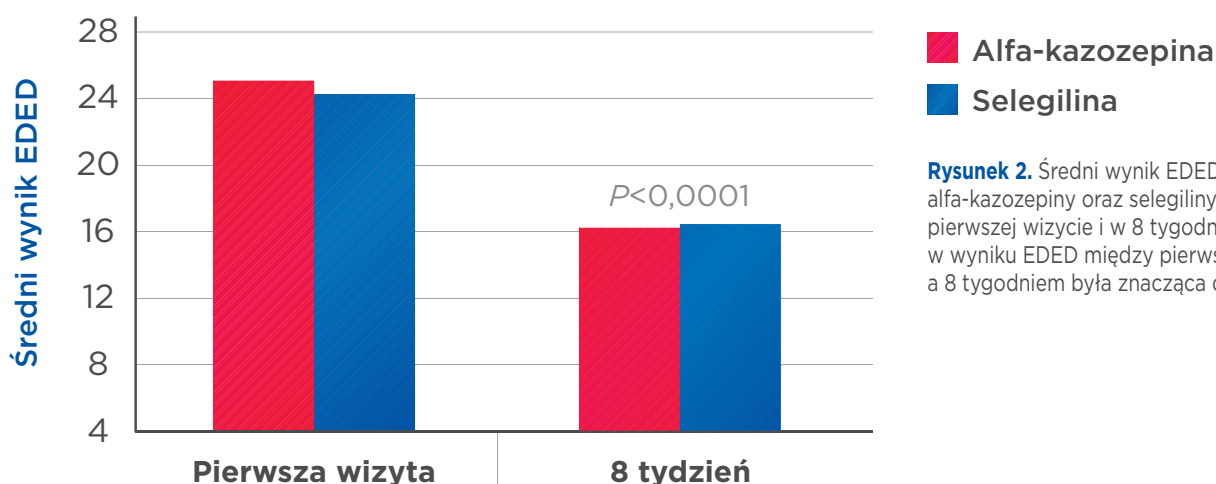
Badanie było porównawczym badaniem wieloosrodkowym, randomizowanym, ze ślepą próbą. Psy oceniano pod kątem objawów niepokoju przy użyciu zatwierdzonej skali zaburzeń emocjonalnych dla psów (EDED - ang. Emotional Disorder Evaluation for Dog). W badaniu uczestniczyły psy, u których zdiagnozowano zachowania związane z niepokojem utrzymujące się przez >4 tygodni, które uzyskały sumaryczną ocenę >19 z 45 na skali EDED. Właściciele dokonali subiektywnej oceny i oceny punktowej zachowania swoich psów podczas badania na skali od -10 do 10.

Psy zostały losowo przydzielone do grupy otrzymującej alfa-kazozepinę (testowa) lub selegilinę.

Grupa testowa otrzymywała 15 mg/kg masy ciała alfa-kazozepiny ustnie raz dziennie, a grupa z selegiliną otrzymywała 0,5 mg/kg wagi ciała raz dziennie. Do psów z obu grup zastosowano modyfikację behawioralną. Każdy z psów był oceniany 5 razy podczas 56 dni badania. Oceny wykonano na początku badania oraz po upływie 4 i 8 tygodnia w szpitalu, a oceny telefoniczne odbyły się w tygodniu 2 i 6. Podczas każdej z ocen śledzono dwie oddzielne kategorie. Punktację EDED oraz subiektywną ocenę zmiany przez właściciela. Za wyniki pozytywne uznawano wynik EDED < 20 oraz subiektywną ocenę zmiany przez właściciela ≥ 6/10. Aby terapia została uznana za udaną, konieczne było spełnienie obu kryteriów.

WYNIKI

Trzydzieści osiem psów (19 samic, 19 samców) ukończyło badanie. Ogólnie powodzenie wystąpiło w 19 przypadkach: 10 psów z grupy z alfa-kazozepiną oraz 9 psów w grupie z selegiliną. Nie wystąpiła znacząca różnica między obiema grupami; alfa-kazozepina i selegilina okazały się równie skuteczne w leczeniu niepokoju w oparciu zarówno o wyniki EDED jak i oceny właścicieli. Wystąpił znaczący ($P < 0,0001$) spadek w średnim wyniku EDED pomiędzy pierwszą wizytą a 8 tygodniem dla obu grup (**Rysunek 2**). Oceniający nie mogli stwierdzić powodzenia leczenia do oceny w 6 tygodniu, ale tendencja poprawy wyniku EDED pojawiła się już w 15 dniu.



Rysunek 2. Średni wynik EDED dla grup alfa-kazozepiny oraz selegiliny przy pierwszej wizycie i w 8 tygodniu. Różnica w wyniku EDED między pierwszą wizytą a 8 tygodniem była znacząca dla obu grup.

WNIOSKI I ZNACZENIE KLINICZNE

Alfa-kazozepina była równie skuteczna w leczeniu niepokoju, co selegilina, MAOI sprzedawany jako środek leczący zaburzenia lękowe i dysfunkcję kognitywną u psów. To badanie dostarcza dowodów na skuteczność alfa-kazozepiny w leczeniu psów, u których występują zachowania związane z niepokojem. Ponadto, nie stwierdzono żadnych efektów ubocznych u psów otrzymujących alfa-kazozepinę.

PODSUMOWANIE WNIOSKÓW NAUKOWYCH

Uznaje się, że stres odgrywa ważną rolę w osi jelitowo-mózgowej, a ograniczenie stresu jest zalecane jako kluczowy element wielostronnego leczenia psów cierpiących na stres lub niepokój. Lekkostrawne karmy zawierające błonnik prebiotyczny i składnik łagodzący stres, jak Hill's™ Prescription Diet™ i/d™ Stress, mogą ograniczać nieprawidłowości w osi jelitowo-mózgowej i wspomagać leczenie psów z zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi powiązanymi ze stresem.

ŹRÓDŁA

- ¹ Honneffer JB, Minamoto Y, Suchodolski JS. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World Journal of Gastroenterology* 2014;20(44):16489-16497.
- ² Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *J Physiology and Pharmacology* 2011;62(6):591-599.
- ³ Gibson GR and Roberfroid M, editors. *Handbook of Prebiotics*. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, 2008;1-22.
- ⁴ Miclo L, Perrin E, Driou A, *et al.* Characterization of alpha-casozepine, a tryptic peptide from bovine alpha-s1-casein with benzodiazepine-like activity. *FASEB J.* 2001;15(10):1780-1782.
- ⁵ Beata C, Beaumont-Graff E, Diaz C, *et al.* Effects of alpha-casozepine (Zylkene) versus selegiline hydrochloride (Selgian, Anipryl) on anxiety disorders in dogs. *J Vet Behavior.* 2007;2(5):175-183.
- ⁶ Beata C, Beaumont-Graff E, Coll V, *et al.* Effect of alpha-casozepine (Zylkene) on anxiety in cats. *J Vet Behavior.* 2007;2(2):40-46.

