

## Aktuelna tema

# Crevna mikroflora i uremijski toksini poreklom iz creva kod bolesnika sa hroničnom insuficijencijom bubrega

**Miloš Mitrović<sup>1</sup>,  
Nada Dimković<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Kliničko bolnički centar Zvezdara, Kliničko odeljenje za nefrologiju i poremećaje metabolizma sa dijalizom "Prof. dr Vasilije Jovanović", Beograd, Srbija

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija

Primljen – Received: 03/11/2018  
Prihvaćen – Accepted: 15/11/2018

*Adresa autora:  
Kliničko odeljenje za nefrologiju i poremećaje metabolizma sa dijalizom, KBC Zvezdara  
D. Tucovića 161, 11 000 Beograd  
dr.milosh.mitrovic@gmail.com*

**Copyright:** ©2018 Mitrović M & Dimković N. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

## Kratak sadržaj

Poslednjih godina pažnja istraživačke javnosti usmerena je na crevnu mikrobiotu i njenu ulogu u održavanju ljudskog zdravlja. Crevna mikrobiota bolesnika sa hroničnom insuficijencijom bubrega je izmenjena usled visoke uree i metaboličke acidoze, specifične dijetete i terapije, kao i produženog vremena crevnog tranzita. U crevnoj mikrobioti dominiraju protein-fermentišuće bakterije – *E. coli*, *Bacteroides* i *Ruminococcus* spp. Posledično, na sluznici creva proizvode se ključni nefro- i kardiovaskularni toksini, među kojima su posebno značajni indoksil sulfat (IS) i p-krezol sulfat (PCS). Niz opservacionih studija i studija na životinjama pokazao je značajan uticaj povišenih koncentracija IS i PCS u serumu na kardiovaskularni komorbiditet i progresiju insuficijencije bubrega.

Na smanjenje koncentracije uremijskih toksina i njihov efekat može se uticati na nekoliko načina. Primena sinbiotika - prebiotika uz probiotske kulture u cilju modulacije crevnog mikrobioma, predstavlja aktuelno najoptimalnije rešenje. Probiotske kulture *Bifidobacter* i *Lactobacillus* do sada su pokazale najveći potencijal u sprečavanju rasta bakterija koje stvaraju uremijske toksine. Ipak, definitivne zaključke o efikasnosti ove terapije kod bolesnika sa hroničnom insuficijencijom bubrega, potrebno je više prospektivnih randomizovanih studija slučajeva i kontrola sa jasno definisanom dijetom.

**Ključne reči:** crevna mikrobiota, hronična insuficijencija bubrega, uremijski toksini

## Uvod

Samim trenutkom rođenja ljudski organizam stupa u sredinu koja nije sterilna. On biva naseljen čitavim ekosistemom bakterija, gljivica, virusa i parazita koji sa njim koegzistiraju, rastu i razvijaju se. Ovaj ekosistem naziva se mikrobiomom, i od ogromnog je značaja za normalno funkcionisanje ljudskog organizma, naročito našeg imunskog sistema. Broj mikroorganizama koji sačinjavaju mikrobiom prevazilazi broj ćelija ljudskog organizma čak deset puta. Oni naseljavaju gotovo svaki mikrometar našeg organizma, našu kožu, čitav sistem organa za varenje, mokraćnu bešiku, matericu. Poslednjih godina pažnja istraživačke javnosti naročito je usmerena na crevnu mikrofloru i njen značaj u održavanju zdravlja, odnosno ulogu u nastanku bolesti [1]. Terapijska izmena crevne flore predstavlja potencijalno moćno oružje u lečenju brojnih poremećaja različitih organskih sistema [1].

## Crevna mikroflora i uremijski toksini indoksilsulfat i p-krezol-sulfat

U oblasti nefrologije, najviše pažnje je posvećeno ulozi crevne flore u progresiji insuficijencije bubrega i njenom doprinosu povećanja rizika od kardiovaskularnih bolesti kod bolesnika sa hroničnim bolestima bubrega. Smatra se da se upravo na sluznici creva produkuju ključni nefro- i kardiovaskularni toksini, među kojima se posebno ističu indoksil sulfat (*indoxyl-sulfat* – IS) i p-krezol sulfat (*p-cresyl-sulfate*– PCS) [2, 3].

IS i PCS uobičajeno produkuju bakterije crevne flore varenjem proteina unesenih ishranom. Bakterije koje produkuju enzim triptofanazu vrše razgradnju aminokiseline triptofan do indola, dok bakterije koje poseduju 4-hidroksifenilacetat dekarboksilazu razgrađuju tirozin i fenil-alanin do p-cresola. Ova dva toksina se cirkulacijom prenose do jetre, gde se dalje metabolišu do IS i PCS, a potom dospevaju u cirkulaciju. Čak 99% ukupnog IS i PCS vezano je za proteine plazme, dok je samo 1% slobodan. U stanjima povećane produkcije IS i PCS, poput hronične insuficijencije bubrega, povećava se slobodna frakcija ovih supstanci i do 10%. Uzroci povećane produkcije IS i PCS kod bolesnika sa hroničnom slabošću bubrega su: smanjena eliminacija putem urina, poremećeno varenje i apsorpcija proteina u tankom crevu, kao i pojačana produkcija IS i PCS od strane izmenjene crevne mikroflora [4, 5]. Do izmene crevne mikroflora kod ove populacije bolesnika dolazi usled povećane koncentracije uree u organizmu, te snižene pH vrednosti unutar crevnog lumena, smanjenog unosa vlaknaste hrane u ishrani, primene vezivača fosfora u terapiji, kao i produženog vremena transporta hrane kroz debelo crevo [6].

Značaj povećane koncentracije IS i PCS u serumu bolesnika sa hroničnom insuficijencijom bubrega pokazan je u nizu opservacionih studija i studija na životinjama. Tako su Bammens i saradnici [7] u studiji koja je obuhvatila kohortu od 175 bolesnika na hemodijalizi pokazali da je natprosečna koncentracija slobodnog PCS kod ove grupe bolesnika nezavisni prediktor mortaliteta svih uzroka. Slične rezultate pokazao je za IS Melamed sa saradnicima [8] u svojoj studiji sa

521 bolesnikom lečenih hemodijalizom. U studiji na 499 bolesnika u IV i V stadijumu bubrežne slabosti, Meijers i sar. [9] su pokazali da je rizik od kardiovaskularnih događaja značajno viši kod bolesnika sa natprosečnim nivoom slobodnog PCS. U meta-analizi Lin-a i saradnika [10] koja je obuhvatila 11 studija sa 1572 pacijenta sa hroničnom bubrežnom slabošću, pokazana je povezanost povišenih nivoa PCS i IS sa povišenim mortalitetom svih razloga, kao i povezanost povišenih nivoa PCS i rizika od kardiovaskularnih događaja, dok ista povezanost nije dokazana za IS. Sa druge strane, Wu i saradnici [11] su u svojoj studiji sa 268 bolesnika opisali da je koncentracija ukupnog IS i PCS nezavisni prediktor progresije hronične slabosti bubrega. U svom sistematskom pregledu, Castillo-Rodriguez sa saradnicima [12], na osnovu 26 trenutno najaktuelnijih studija iz ove oblasti, zaključila je da je najverovatniji uzrok toksični efekat ovih materija na podocyte, odnosno bubrežni intersticijum, sa posledičnom glomerulosklerozom i intersticijalnom fibrozom.

Uzroci kardiovaskularne toksičnosti i nefrotoksičnosti PCS i IS dokazani su u studijama na životinjama. Tako su Yamamoto i sar. [13] u studiji na miševima pokazali da njihovo hranjenje granulama obogaćenim IS dovodi do značajne proliferacije glatko-mišićnih ćelija u velikim krvnim sudovima i progresije kalcifikacije aorte. Niwa sa saradnicima [14] je u studiji na miševima pokazao značajan efekat oralno unetog IS na sklerozu glomerula bubrega i progresivno smanjenje jačine glomerularne filtracije. Slične rezultate dobili su *Suni* saradnici [15] koji zaključuju da IS i PCS indukuju proces fibroze u bubrezima povećavajući ekspresiju renina, angiotenzina i angiotenzin 1 receptora, kao i ekspresiju transformišućeg faktora rasta- $\beta$ 1.

## Terapijske mogućnosti usmerene ka uremijskim toksinima

Postoji nekoliko terapijskih mogućnosti kojima se može uticati na nivo uremijskih toksina i njihov efekat. Moglo bi se pokušati da se smanji njihova produkcija ili omogući njihova apsorpcija na nivou crevne sluznice, ali i da se pojača njihova

eliminacija ili blokiraju njihova dejstva u ćeliji. Jedino dijalizom je moguće povećati eliminaciju uremijskih toksina iz organizma, ali je ova metoda rezervisana za osobe koje su već razvile terminalnu slabost bubrega. Pokušaji blokiranja dejstva toksina na nivou receptora ćelijske membrane su još uvek u eksperimentalnoj fazi u studijama na životinjama [16]. Iako se inicijalno u manjim studijama pokazala efikasnom, adsorpcija uremijskih toksina u crevima aktivnim ugljem (AST-120) nije dala značajne rezultate u smislu prevencije kardiovaskularnih događaja i usporavanja progresije hronične bubrežne slabosti, sudeći prema velikoj randomizovanoj Evaluating Prevention of Progression In Chronic kidney disease (EPPIC) studiji treće faze, sprovedenoj na 2035 ispitanika sa hroničnom bubrežnom slabošću [17].

Kao najdostupnija i najrealnija terapijska mogućnost smatra se smanjenje produkcije toksina u crevu. To je moguće izvesti na dva načina: dijetom siromašnom proteinima ili primenom sinbiotika. Uvođenje dijetne siromašne proteinima (ispod 0,6 g/kg/dan), značajno smanjuje produkciju svih uremijskih toksina. Međutim, prema Modification of Diet in Renal Disease studiji ovakvim načinom ishrane značajno se povećava rizik od razvoja neuhranjenosti kod bolesnika sa hroničnom insuficijencijom bubrega, što značajno smanjuje dobit ovakvog terapijskog postupka [18].

Primena sinbiotika, sastavljenog od probiotičkih bakterijskih kultura i prebiotika- ugljenih hidrata koji stimulišu rast probiotičkih kultura, predstavlja aktuelno najoptimalnije rešenje za smanjenje proizvodnje uremijskih toksina, po-

sebno ako se uzme u obzir njihova cena i nepostojanje značajnijih neželjenih efekata njihove primene. Za dobar terapijski efekat, potrebna je probiotska kultura koja bi mogla da spreči rast bakterija koje vare proteine i produkuju PCS i IS, a pre svega *E. coli*, *Bacteroides Ruminococcus spp* [4, 19, 20]. Upravo ovi bakterijski sojevi dominiraju u crevnoj mikroflori bolesnika sa hroničnom slabošću bubrega. Kao najbolji kandidati sa ovim osobinama izdvajaju se kulture *Bifidobacter* i *Lactobacillus* [19, 20]. Prema sistematskom pregledu Rossi-a i saradnika [21], koji su analizirali rezultate 19 manjih studija, upravo su ova dva bakterijska soja uspešno korišćena u najvećem broju studija, i pokazala su značajan efekat u smislu smanjenja koncentracije uremijskih toksina u serumu i urinu bolesnika sa hroničnom slabošću bubrega.

Za definitivne zaključke o efikasnosti ove terapije kod bolesnika sa hroničnom insuficijencijom bubrega potrebno je više prospektivnih randomizovanih studija slučajeva i kontrola, sa jasno definisanom dijetom [22]. Utvrđivanje pozitivnih efekata bi moglo značajno da utiče na porast naše svesti o značaju primene sinbiotika kod bolesnika sa hroničnom slabošću bubrega, što bi moglo da utiče na usporavanje progresije bolesti i smanjenje kardiovaskularnog morbiditeta u ovoj populaciji. Ova vrsta terapije je dostupna i može predstavljati važnu dodatnu strategiju u lečenju bolesnika sa hroničnom slabošću bubrega koja do sada nije rutinski primenjivana kod nas, a ni u svetu.

Autori izjavljuju da nemaju sukob interesa.  
The authors declare no conflicts of interest.

## Literatura

1. Austin M, Mellow M, Tierney WM. Fecal microbiota transplantation in the treatment of clostridium difficile infections. *Am J Med* 2014;127:479-83.
2. Meijers BKI, Evenepoel P. The gut-kidney axis: indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:759-61.
3. Schepers E, Glorieux G, Vanholder R. The Gut: the forgotten organ in Uremia? *Blood Purif* 2010;29:130-6.
4. Ellis RJ, Small DM, Vesey DA, Johnson DW, Francis R, Vitetta L, et al. Indoxyl sulphate and kidney disease: Causes, consequences and interventions. *Nephrology (Carlton)* 2016;21(3):170-7.
5. Cigarran Guldris S, González Parra E, Cases Amenós A. Gut microbiota in chronic kidney disease. *Nefrologia*. 2017;37(1):9-19.
6. Vaziri ND, Wong J, Pahl M, Piceno YM, Yuan J, DeSantis TZ, et al. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora. *Kidney Int* 2013;83:308-15.
7. Bammens B, Evenepoel P, Keuleers H. Free serum concentrations of the protein-bound retention solute p-cresol predict mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2006;69:1081-7.
8. Melamed ML, Plantinga L, Shafi T, Parekh R, Meyer TW, Hostetter TH, et al. Retained organic solutes, pa-

- tient characteristics and all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis: results from the retained organic solutes and clinical outcomes (ROSCO) investigators. *BMC Nephrol* 2013;14:134.
9. Meijers BK, Claes K, Bammens B, de Loor H, Viaene L, Verbeke K, et al. p-Cresol and cardiovascular risk in mild to-moderate kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1182-9.
  10. Lin CJ, Wu V, Wu PC, Wu CJ. Meta-Analysis of the Associations of p-Cresyl Sulfate (PCS) and Indoxyl Sulfate (IS) with Cardiovascular Events and All-Cause Mortality in Patients with Chronic Renal Failure. *PLoS One* 2015;10(7):e0132589.
  11. Wu IW, Hsu KH, Lee CC, Sun CY, Hsu HJ, Tsai CJ, et al. P-Cresyl sulphate and indoxyl sulphate predict progression of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2010;26:938-47.
  12. Castillo-Rodriguez E, Fernandez-Prado R, Esteras R, Perez-Gomez MV, Gracia-Iguacel C, Fernandez-Fernandez B, et al. Impact of Altered Intestinal Microbiota on Chronic Kidney Disease Progression. *Toxins* 2018;10:300.
  13. Yamamoto H, Tsuruoka S, Ioka T, Ando H, Ito C, Akimoto T, et al. Indoxyl sulfate stimulates proliferation of rat vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 2006;69:1780-5.
  14. Niwa T. Uremic toxicities of indoxyl sulphate. *Nagoya J Med Sci* 2010;71:1-11.
  15. Sun CY, Chang SC, Wu MS. Uremic toxins induce kidney fibrosis by activating intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system associated epithelial-to-mesenchymal transition. *PLoS One* 2012;7:e34026.
  16. Liu S, Wang BH, Kompa AR, Lekawanvijit S, Krum H. Antagonists of organic anion transporters 1 and 3 ameliorate adverse cardiac remodelling induced by uremic toxin indoxyl sulfate. *Int J Cardiol* 2012;158:457-8.
  17. Schulman G, Berl T, Beck GJ. EPPIC (Evaluating Prevention of Progression In Chronic Kidney Disease). Results from 2 Phase III, randomized, placebo-controlled, double-blind trials of AST-120 in adults with CKD. *ASN* 2012;APO1106.
  18. Dolecek TA, Olson MB, Caggiula AW, Dwyer JT, Milas NC, Gillis BP. Registered dietician time requirements in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *J Am Diet Assoc* 1995;95:1307-12.
  19. Ling WH, Korpela R, Mykkänen H, Salminen S, Hänninen O. Lactobacillus strain GG supplementation decreases colonic hydrolytic and reductive enzyme activities in healthy female adults. *J Nutr* 1994;124:18-23.
  20. Collado MC, Gueimonde M, Sanz Y, Salminen S. Adhesion properties and competitive pathogen exclusion ability of bifidobacteria with acquired acid resistance. *J Food Prot* 2006;69:1675-9.
  21. Rossi M, Klein K, Johnson DW, Campbell KL. Pre-pro-, and synbiotics: do they have a role in reducing uremic toxins? A systematic review and meta-analysis. *Int J Nephrol* 2012;673631.
  22. Pisano A, D'Arrigo G, Coppolino G, Bolignano D. Biotic Supplements for Renal Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 2018;10:E1224.

## Gut microbiota and uremic toxins produced in intestines in patients with chronic renal failure

Miloš Mitrović<sup>1</sup>, Nada Dimković<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Zvezdara University Medical Center, Clinical Department of Renal Diseases and Metabolic Disorders with Dialysis "Prof. dr Vasilije Jovanović", Belgrade, Serbia

<sup>2</sup>University of Belgrade, School of Medicine, Belgrade, Serbia

In recent years, academic publishing excited a considerable interest in gut microbiota and its role in human health maintenance. In patients with chronic renal failure, gut microbiota is altered due to increased blood urea nitrogen and metabolic acidosis, specific diet and therapy, as well as prolonged intestinal transit time. Protein-fermenting bacteria such as *E. coli*, *Bacteroides* and *Ruminococcus spp* dominate gut microbiota in patients with chronic renal failure. Therefore, the key nephro- and cardiovascular toxins, such as *indoxyl-sulfate* (IS) and *p-cresyl-sulfate* (PCS) are produced in the gut mucosa. The important impact of increased serum levels of IS and PCS on cardiovascular comorbidity and further deterioration of renal function has been witnessed by numerous observational and animal studies.

There are several therapeutic strategies for lowering serum levels of IS and PCS as well as their toxic effect. The use of synbiotics, pre- and probiotics, in order to modulate gut microbiota is the most optimal solution currently used. Probiotic cultures of *Bifidobacter* and *Lactobacillus* have presented themselves as the ones with the greatest potential to limit the growth of protein-fermenting bacteria responsible for the production of uremic toxins. Nevertheless, there is still a need for more well-designed prospective interventional studies, as well as for controls with well-defined diet restrictions, in order to establish definitive value of this kind of therapy in patients with chronic renal failure.

**Keywords:** gut microbiota, chronic renal failure, uremic toxins