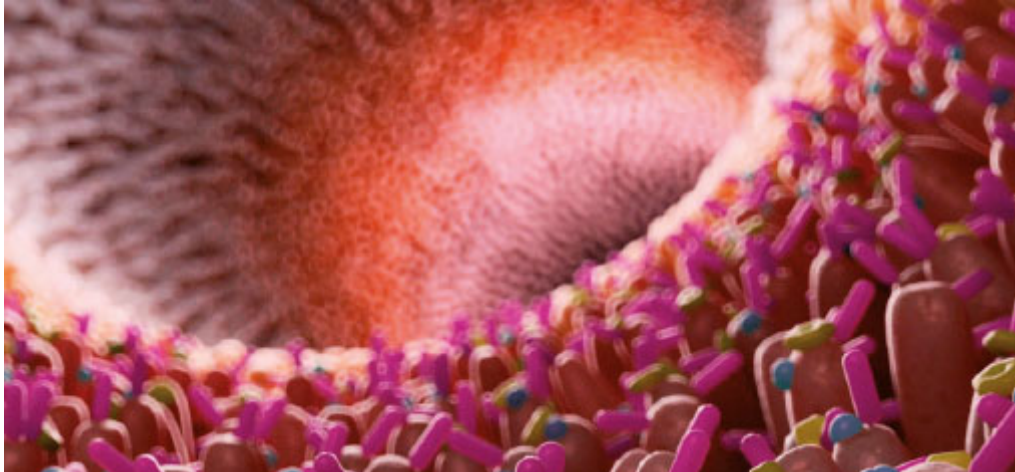


# Microbiologische metabolieten in ziekte en gezondheid

In deze brochure staat de betekenis van de darmflora voor de gezondheid van de gastheer centraal. Ook zal aandacht worden geschonken aan diverse vormen van floramodulatie. Bovendien zullen de voordelen van het gebruik van microbiologische metabolieten boven het gebruik van levende micro-organismen ('probiotica') behandeld worden. Uiteindelijk wordt geconcludeerd dat het gebruik van microbiële metabolieten voor een duidelijk omschreven groep van aandoeningen, met name diverse vormen van diarree, de voorkeur geniet boven het gebruik van klassieke probiotica.





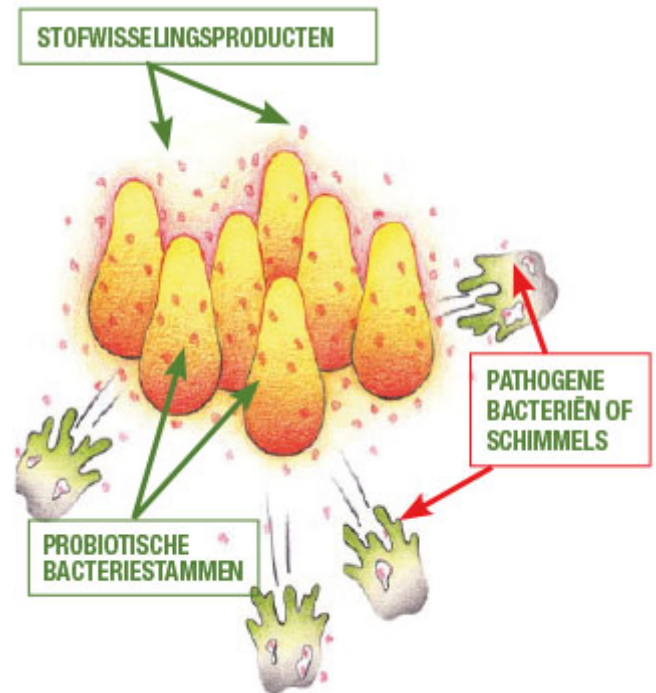
## Inleiding

Het gebruik van levende bacteriële preparaten is een gewoonte die zeer waarschijnlijk ouder is dan de welbekende weg naar Rome. Al sinds de oudheid kennen diverse volkeren de gewoonte om hun voedsel te vergisten met behulp van micro-organismen. Eén van de eerste meldingen van het gebruik van vergiste, of gefermenteerde voeding komt uit een onverwachte hoek: in het Oude Testament (Genesis 18:8) is reeds sprake van het gebruik van gefermenteerde melk. Sindsdien begint de gewoonte om tijdens voedselbereiding gebruik te maken van micro-organismen aan een lange reis door de tijd. Met name de productie van kaas, bier en wijn zijn hiervan goede voorbeelden. De eerste poging om het effect van gefermenteerde voeding op de gezondheid van de gastheer wetenschappelijk te benaderen vindt plaats aan het begin van de twintigste eeuw. In 1907 publiceert Eli Metchnikoff zijn *Essais Optimistes* waarin het verouderingsproces van de mens centraal staat. Eén van de hoofdstukken uit dat boek gaat over het effect van voeding op de levensverwachting. Uit de observatie dat Bulgaren aan het begin van de twintigste eeuw een relatief hoge levensverwachting hadden, concludeerde Metchnikoff dat hun voeding, en dan in het bijzonder hun yoghurt, mede voor die verhoogde levensverwachting verantwoordelijk zou kunnen zijn. Het orale gebruik van bacterie-preparaten voor het bestrijden van diverse darmaandoeningen wint aan populariteit in de periode tussen de wereldoorlogen. Onder invloed van de Tweede Wereldoorlog wordt de ontwikkeling van de moderne antibiotica, die in 1937 begint door de ontdekking van de sulfonamiden door Domagk, enorm versneld. Door deze ontwikkeling en door het overweldigende succes van deze preparaten vermindert de belangstelling van de reguliere medische gemeenschap voor de invloed van de darmflora op de gezondheid van de gastheer. In de alternatieve medische hoek, met name binnen de Duitse "Naturheilkunst", blijft men echter geïnteresseerd in de darmflora en de modulatie daarvan. Sterker nog, het belang van een evenwichtige darmflora wordt binnen de natuurgeneeskunde vrij snel erkend. Deze ontwikkeling is goed te begrijpen. Binnen de natuurgeneeskunde baseert men zich immers op het aloude begrip van homeostase (=evenwicht). Verstoring van die homeostase door allerlei vormen van toxische belasting heeft een verminderd functioneren van het individu tot gevolg. Hoewel het homeostase- concept ook binnen de reguliere geneeskunde ingang vindt, krijgt het hier niet de fundamentele rol die het binnen de natuurgeneeskunde ten deel valt. Binnen de natuurgeneeskunde ontwikkelt het homeostase-concept zich inmiddels verder en evolueert tot een alternatieve ziekteleer: de

humoraalpathologie. Deze ziekteer is gebaseerd op het concept dat kleine verstoringen van de homeostase zichzelf oplossen; men spreekt dan van het humorale ziektestadium en dit wordt geacht omkeerbaar te zijn. Grote verstoringen, die niet meer vanzelf overgaan, worden onomkeerbaar geacht en men zegt dan dat de ziekte het cellulaire stadium heeft bereikt. Het normaliseren van de homeostase, voor zover het ziektestadium

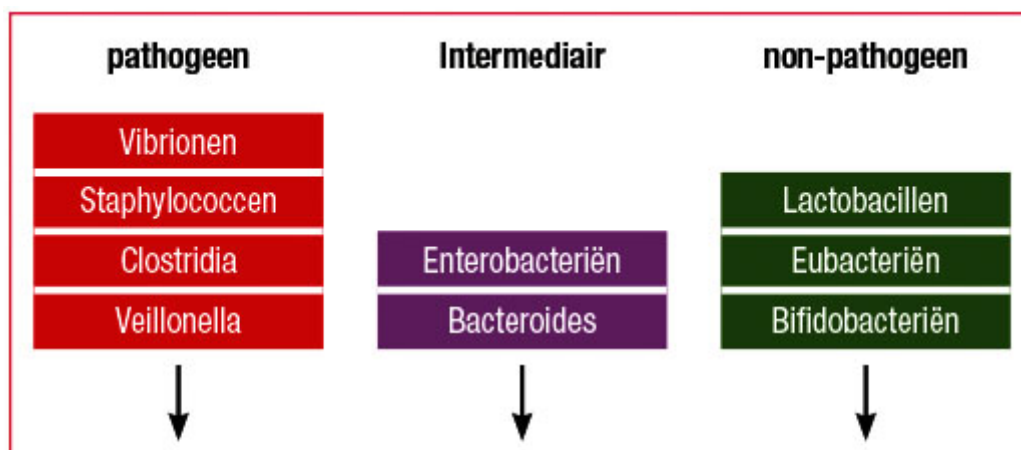
dat toestaat, wordt binnen de natuurgeneeskunde bereikt middels ontgiftiging. Aangezien men van oudsher de darm als de grote fysiologische vervuiler ziet, past normalisering van de darmfunctie, e.g. door dieet, darmspoelingen enzovoort, uitstekend binnen het natuurgeneeskundig denken. Al vrij spoedig na de Tweede Wereldoorlog wordt duidelijk dat veel ziekteverwekkende bacteriën de neiging hebben na verloop van tijd resistent te worden tegen antibiotica. Er ontstaat een stille wapenwedloop tussen de farmaceutische onderzoekers en de bacteriën zelf. De onderzoekers ontwikkelen steeds weer modificaties van bestaande antibiotica of ontdekken zelfs compleet nieuwe families van antibiotica. De bacteriën passen zich ondertussen, geheel volgens de Darwiniaanse evolutietheorie, aan in een immer veranderende antibiotische omgeving en nemen, na 'survival of the fittest', steeds een nieuwe resistente gedaante aan.

Naarmate deze wedloop voortschrijdt wordt het duidelijk dat het resistentieprobleem waarschijnlijk niet oplosbaar is. Er valt daarom in de begin jaren tachtig van deze eeuw, een kentering binnen de experimentele geneeskunde te bespeuren. Het natuurgeneeskundige gedachtengoed wordt weer van stal gehaald. Serieuze academische onderzoeksgroepen gaan zich bezighouden met het onderzoek naar de interactie tussen darmflora en gastheer. Voor een beter begrip is het zinnig om meer inzicht in zowel de samenstelling als de functie(s) van de darmflora te verkrijgen. Hieronder zal dan ook eerst aandacht besteed worden aan dit onderwerp.



## De darmflora

De samenstelling van de humane darmflora en de bijbehorende functies van de diverse bacteriële geslachten staat hieronder grafisch weergegeven in figuur 1.



<b>Diarree Constipatie</b>	<b>Productie carcinogenen</b>	<b>Remming diarree Immuunstimulatie Anticarcinogenese Vitamineproductie</b>
--------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------

**Figuur 1. Samenstelling en functie van de darmflora**

Het valt op dat m.n. aan de Lactobacillen, de Eubacteriën en de Bifidobacteriën gezondmakende of 'probiotische' effecten worden toegeschreven. Daarnaast wordt aan een groot deel van de bacteriën van de darmflora, potentieel pathogene of schadelijke effecten toebedacht. Hierbij moet wel direct een kanttekening geplaatst worden; de mate waarin een bacteriële symbiont een positief of negatief effect op de gastheer heeft, hangt slechts voor een deel samen met de eigenschappen van die symbiont zelf en deels met de conditie van het immuunsysteem van de gastheer. Sterker nog: bacteriën die altijd ziekteverwekkend (of: obligaat pathogeen) zijn, komen normaal niet in de darm voor. Men moet bij deze groep van bacteriën met name denken aan illustere soorten met welluidende namen als: Salmonella typhimurium, Yersinia pestis, Vibrio cholerae en Clostridium botulinum. Veruit de meeste darmbacteriën kunnen pas pathogeen worden als de gastheer dat toelaat. Zolang de gastheer gezond is zal deze hoofdzakelijk de positieve functies van de darmflora ondervinden. **Onderstaand worden een aantal belangrijke functies van de bacteriën, maar soms meer nog die van hun specifieke metabolieten, belicht. Het enorme belang van deze metabolieten en het hebben van een goed inzicht in ons microbioom worden hiermee snel duidelijk:**

### **Het in stand houden van de kolonisatieresistentie**

Ons microbioom bevat normaal gesproken veel verschillende bacteriestammen: heeft een hoge genetische diversiteit. Bij een afname van soortenrijkdom wordt het lichaam gevoeliger voor verschillende aandoeningen, zoals het prikkelbare darmsyndroom, voedselintoleranties en/ of chronische darmziekten en infecties. Het gebruik van antibiotica is de belangrijkste en meest voorkomende oorzaak voor een afname van de diversiteit. De soortenrijkheid is ruim voldoende als de diversiteit overeenkomt met de gebruikelijke verscheidenheid in soorten, die in de menselijke darmflora wordt gevonden. De darmflora is daarmee stabiel en de kolonisatieresistentie (de mate waarin de darmbacteriën weerstand kunnen bieden tegen indringers van

buitenaf) is hoog. Dit houdt in dat het voor een binnenkomend microorganisme (bijvoorbeeld de gist Candida albicans) nagenoeg onmogelijk is om 'poot aan de grond' te krijgen in een stabiel intestinaal ecosysteem waarin alle niches gevuld zijn met de meest geschikte (non-pathogene) bacteriesoort. **De "staat" van ons microbioom is derhalve een zeer belangrijke parameter voor onze darmgezondheid en daarmee onze totale gezondheid.**



## Voedselvertering

Een aantal nutriënten is door de mens minder goed af te breken. Een bekend voorbeeld hiervan is lactose, dat door sommige, met name Afrikaanse en Aziatische, mensen niet afgebroken kan worden, omdat zij het enzym lactase niet tot expressie kunnen brengen. Het gevolg hiervan is dat de onverteerde lactose door de bacteriële flora in de dikke darm omgezet wordt in het zure lactaat. Dit lactaat prikkelde de darmmucosa die daarop meestal reageert met een sterk verhoogde productie van darmslijm of mucus. Het gevolg hiervan is diarree, kramp, pijn en gasvorming. Het zijn met name de melkzure bacteriën zoals *Lactobacillus acidophilus* en *Bifidobacterium bifidum* die, middels de productie van specifieke metabolieten, in staat zijn de lactasefunctie van de gastheer over te nemen zodat deze alsnog in staat is lactose op te nemen voordat deze in lactaat wordt omgezet. Er zal in dat geval geen diarree optreden.

## Verlaging vrij cholesterol door het onderbreken van de Enterohepatische kringloop

Uit divers onderzoek is duidelijk geworden dat sommige micro-organismen (waarvan de best onderzochte een oude bekende is, namelijk *Sacharomyces cerevisiae*, oftewel bakkergist, in staat zijn het geconjugeerde cholesterol samen met andere sterolen op te nemen. Door het onderbreken van de enterohepatische kringloop van de gastheer is het zo mogelijk de heropname van geconjugeerd cholesterol te remmen. Er zal hierdoor een verlaagde concentratie van vrij cholesterol in de circulatie ontstaan terwijl het overige cholesterol, ingebouwd in het betreffende micro-organisme, wordt afgevoerd via de dikke darm.

## Productie van vitamines, zoals vitamine K en een aantal B-vitamines

Met name Bifidobacteriën produceren een aantal vitamines die voor de homeostase van de gastheer van belang zijn.

## Remming groei opportunistische kolonisten of potentieel pathogenen

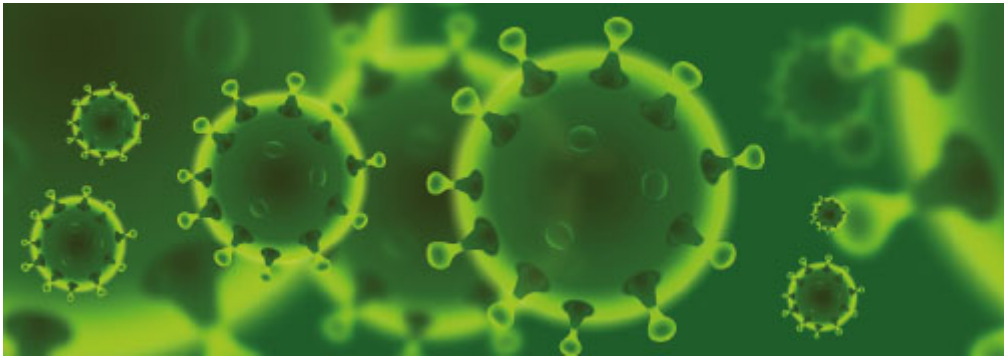
Diverse Enterobacteriën en Enterococci zijn tamelijk gevoelig voor de zuurgraad van het milieu. Een verlaging van de intestinale zuurgraad door bijvoorbeeld de melkzuur-producerende *Lactobacillus*- en *Bifidobacterium*-soorten in de darm blijkt in in-vitro experimenten en in dierstudies de groei van zowel Enterobacteriën als Enterococci significant af te remmen. In het kader van de titel kan worden opgemerkt dat de intestinale zuurgraad wordt verlaagd door de aanwezigheid van de stofwisselingsproducten (metabolieten) van de hierboven genoemde stammen.

## Vergroten van de biologische beschikbaarheid van nutriënten

Deze functie blijkt met name gesteund te worden door een grote bibliografie van veterinaire wetenschappelijke studies. Uit deze studies waar meestal twee of meer groepen van juveniele dieren van dezelfde soort (ruminanten, omnivoren of carnivoren) worden vergeleken blijkt dat de snelheid waarmee deze dieren groeien aanmerkelijk hoger ligt bij die groepen waar het dieet is aangevuld met m.n. *Lactobacillus acidophilus* en/of *Sacharomyces cerevisiae*. Dit type experiment is, vanwege overwegend ethische bezwaren, nog niet op mensen uitgevoerd, maar het ligt in de lijn der verwachting dat soortgelijke effecten ook voor de mens gelden.

## Immuunstimulatie

Dit is waarschijnlijk één van de belangrijkste, maar ook één van de minst begrepen aspecten van de darmflora. Het immuunsysteem van de mens heeft hoofdzakelijk contact met de antigenen in zijn milieu via de darm. De darm alleen al is een 'antigene soep' waarin een zeer grote hoeveelheid antigenen dagelijks passeert. Het zal dan ook geen verbazing wekken dat meer dan de helft van alle macrofagen en lymfocyten (de belangrijkste vertegenwoordigers van respectievelijk het aspecifieke en het specifieke immuunsysteem) in en om de darmwand gelokaliseerd zijn. Uit diverse studies is inmiddels duidelijk geworden dat modulatie van de darmflora een verhoging van aspecifieke fagocytair activiteit van de antigeen- presenterende cellen in en om de darm tot gevolg heeft.



Er wordt aangenomen dat deze verhoogde activiteit waarschijnlijk wordt veroorzaakt door de productie van diverse immuun stimulators, waarvan lipopolysacchariden (LPS) uit de bacteriële celwand de bekendste zijn. Deze lipopolysacchariden zijn de metabolieten (stofwisselingsproducten) van een bepaalde *Escherichia coli* stam, die zich van nature in onze darmen bevindt (zie hiervoor ook tabel 1).

Metabool	Geproduceerd door o.a.	Functie
Vetzuren	Lactobacillen	Remming Enterobacteriën
LPS	<i>Escherichia coli</i>	Immuunstimulatie
Lactase	Lactobacillen	Lactose-vertering
Eiwitten	<i>Escherichia coli</i>	Bescherming darmslijmvlies
Microcines	Bifidobacteriën	Remming o.a. Enterobacteriën
Glucosedehydrogenase	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Ondersteuning van de pancreas

**Tabel 1. Diverse microbiële metabolieten en hun functies**

Door het meten van de stikstofmonoxide-productie door de macrofagen kan die verhoogde immuun activiteit worden vastgesteld. Daarnaast kan een antigeen in de darmflora een specifieke immuunrespons opwekken. Er is dan sprake van activatie van T-lymfocyten die vervolgens immunologisch geheugen (T-memory cellen) en een

humorale immuunrespons door activatie van B-lymfocyten tot plasmacellen induceert. Deze plasmacellen produceren secretair-IgA dat over de darmwand terug-getransporteerd wordt naar de darmholte. Merkwaardigerwijze blijkt deze laatste immuunreactie niet gebonden te zijn aan het darmslijmvlies. De geactiveerde lymfocyten kunnen zich verplaatsen via de bloedbaan, met als gevolg dat ze ook aan andere slijmvliesen, het eerder genoemde secretair-IgA, kunnen produceren. **Wetenschappelijk onderzoek heeft aangetoond dat non-pathogene Escherichia coli en diverse Lactobacillus-soorten, dankzij de productie van stam specifieke metabolieten, in staat zijn een verhoging van de fagocytair activiteit te induceren.** Het gevolg hiervan is een betere bescherming tegen de micro-organismen die naar de bloedbaan van de gastheer translokieren. Het mag uit deze opsomming duidelijk zijn dat de humane darmflora een zeer complex ecosysteem is (bestaande uit minstens 1.000 maal meer bacteriën dan er mensen op aarde leven) met een wijd functiereaal. **Onderzoek naar de samenstelling en het functioneren van de darmflora vormt dan ook een essentiële diagnostische handeling, voordat een rationele therapie gestart kan worden.**

## Microbiële metabolieten

Het is inmiddels duidelijk dat een aantal bacteriën in staat zijn tot een wijd scala van gezondheid bevorderende effecten op de gastheer. De Lactobacillen, Bifidobacteriën, Escherichia coli en de gist Saccharomyces cerevisiae zijn daarvan de best onderzochte stammen. **Ook zijn inmiddels een groot aantal van de metabolieten die voor die effecten verantwoordelijk zijn geïdentificeerd. In tabel 1 is een aantal van die metabolieten opgenomen.** Een goed voorbeeld van een preparaat op basis van metabolieten is de combinatie van twee Lactobacillen, de Escherichiacoli en de Streptococcus faecalis. Eén van de vermeende effecten van deze combinatie van stofwisselingsproducten is suppressie van de groei van enteropathogenen, dankzij de aanwezigheid van antibacteriële stoffen (metabolieten), die door de door de bovengenoemde probiotische bacteriestammen worden geproduceerd. Een voorbeeld daarvan is de productie van biosynthetische melkzuren, die in de afzonderlijke onderdelen van de darm een pH-verschuiving in de richting van de normale (fysiologische) verhoudingen verzorgen. In het zure bereik ( $\text{pH} < 4$ ) werken de metabolieten bacteriostatisch op vooral de pathogene kiemen, terwijl de aerobe bacteriën van de menselijke darmflora, dankzij de aanwezigheid van de stofwisselingsproducten, nauwelijks worden beïnvloed. Onder neutrale pH-waarden stimuleren zij de groei van vooral de lichaamseigen anaerobe flora, waardoor de natuurlijke immunologische rol van de darmflora wordt ondersteund. Dankzij deze combinatie wordt een versnelde regeneratie van de aangetaste darmflora, alsmede een protectief effect op het darmslijmvlies bereikt.



**Het gebruik van microbiële metabolieten geproduceerd door probiotische bacteriecultures is een relatief nieuwe therapievorm. Het aantal preparaten op basis van (probiotische) microbiële metabolieten valt dan ook in het niet vergeleken bij de hoeveelheid 'whole-cell' probioticum preparaten. Dit is des te merkwaardiger als men de vele voordelen van het gebruik van microbiële metabolieten in ogenschouw neemt:**

### Het therapeutisch effect van preparaten op basis van metabolieten

Microbiële metabolieten kunnen geconcentreerd worden. Dit is een groot voordeel ten opzichte van het klassieke probioticum, dat voor zijn therapeutisch effect altijd afhankelijk is van de mate waarin deze in staat is uit te groeien in de darm van de gastheer. De hoge concentratie van de preparaten op basis van microbiële metabolieten garandeert veelal een veel groter therapeutisch effect.

### Het gebruik van microbiële metabolieten zonder voorafgaande feces-diagnostiek is daarom (relatief) ook veiliger dan het blind inzetten van een levend probioticum.

Reeds eerder werd opgemerkt dat de pathogeniciteit van een micro-organisme deels wordt bepaald door eigenschappen van dat organisme zelf, maar ook door immunologische eigenschappen van de gastheer.

### Standaardisatie van preparaten op basis van metabolieten

Microbiële metabolieten zijn veel beter te standaardiseren, waardoor een constante samenstelling van het preparaat gegarandeerd kan worden. De hoeveelheid metabolieten welke in-vivo door een probioticum geproduceerd kunnen worden is van veel factoren afhankelijk en daarom vaak moeilijk voorspelbaar. De grotere en gestandaardiseerde concentratie van de preparaten op basis van microbiële metabolieten geven de arts/therapeut de mogelijkheid de toegediende dosis exact te reguleren en daarmee het positieve effect van de therapie veel beter te kunnen voorspellen. Deze mogelijkheid biedt het gebruik van een levend probioticum niet. Het is immers nooit met zekerheid te voorspellen hoe snel een levend probioticum na beëindiging van de therapie uit het darmkanaal zal verdwijnen.

### Steriliteit en bewaarcondities van preparaten op basis van metabolieten

Microbiële metabolieten zijn in principe steriel. Eenmaal aangebroken hoeft dit type preparaat dan ook niet gekoeld bewaard te worden, zoals dat gebruikelijk is bij vloeibare probioticum preparaten. Dit maakt het gebruik van dit type preparaat onder niet-Westerse omstandigheden, zoals bijvoorbeeld in Derde Wereld, waar ten gevolge van slechte stroomvoorzieningen, nauwelijks betrouwbare koelkasten en vriezers voorhanden zijn, veel eenvoudiger. Ze zijn bovendien niet afhankelijk van de vitaliteit van de bacterie welke die metabolieten produceerde. Hierdoor kan dit type preparaat veel langer bewaard worden. Hoewel de probiotische preparaten die thans op de markt zijn alleen bestaan uit zogenaamde non-pathogenen, is het in het verleden reeds een aantal malen voorgekomen dat mensen met een zeer slecht afweersysteem, zeer oude mensen en pasgeborenen, geïnfecteerd raakten door bijvoorbeeld Lactobacillen. Omdat preparaten op basis van microbiële metabolieten altijd steriel zijn kunnen ze ook veilig aan mensen met een immuundeficiëntie worden voorgeschreven.

Naast de hierboven opgesomde voordelen van het gebruik van microbiële metabolieten dient zeker aandacht besteed te worden aan de (on)mogelijkheden van dit type preparaat. Zo is het bijvoorbeeld uitgesloten dat preparaten op basis van microbiële metabolieten in staat zijn tot die functies die een volledig functionerende (probiotische) cel vereisen. Te denken valt dan aan: substraatcompetitie, competitie om adhesieplaatsen aan de enterocyten membraan en inclusie van geconjugeerd cholesterol in de cel.

## Conclusie

Op basis van de bovenstaande verhandeling kan een aantal conclusies getrokken worden. De humane darmflora is van essentieel belang voor de integriteit en de overleving van het individu. Het heeft een groot aantal functies, die beïnvloedt kunnen worden door de samenstelling van die darmflora te moduleren. De samenstelling en het functioneren van de darmflora is enorm complex. Een zinnelle, verantwoorde en gerichte



samenstelling en het functioneren van de darmflora is enorm complex. Een zinvolle, verantwoorde en gerichte modulatie is daarom vrijwel uitsluitend mogelijk na voorafgaand laboratorium-onderzoek naar de samenstelling en het functioneren van die darmflora. Op basis van de informatie die de arts/therapeut ter beschikking heeft na onderzoek van de darmflora kan op rationele wijze een keuze voor de behandeling worden gemaakt. Naast het gebruik van microbiële metabolieten bij diverse dysbioses, verdient deze therapie in het bijzonder de voorkeur bij de behandeling van: infectieuze diarree, chronische non-infectieuze diarree en lactose-intolerantie. Ook zijn deze preparaten het middel van eerste keus bij ondersteuning en/of stimulatie van de eigen immuunfuncties en/of wanneer er geen laboratoriumonderzoek vooraf heeft plaatsgevonden. Het gebruik van microbiële metabolieten is essentieel als hierboven genoemde aandoeningen voorkomen bij patiënten met een sterk verminderde weerstand, ouderen en pasgeborenen. Het gebruik van probiotica bij deze patiëntengroepen wordt daarom sterk afgeraden.

## Over de auteur

Dr G.J. Jansen is sinds oktober 1991 als wetenschappelijk onderzoeker werkzaam op de disciplinegroep Medische Microbiologie van de universiteit van Groningen. In 1994 promoveerde hij op een onderzoeksproject waarin de effecten van orale therapie met o.a. *Escherichia coli* op de werking van het humane immuunsysteem werden beschreven. Sinds die tijd houdt hij zich intensief bezig met de ontwikkeling van geavanceerde (moleculair biologische) methoden voor de analyse van de darmflora en de gastheerrespons.