



IMUNSKI SISTEM – KLJUČNI OBRAMBNI SISTEM ČLOVEŠKEGA ORGANIZMA



Urednika

Mirjam Gosenca Matjaž in Tihomir Tomašič

IMUNSKI SISTEM – KLJUČNI OBRAMBNI SISTEM ČLOVEŠKEGA ORGANIZMA

Urednika

Mirjam Gosenca Matjaž in Tihomir Tomašič

IMUNSKI SISTEM – KLJUČNI OBRAMBNI SISTEM ČLOVEŠKEGA ORGANIZMA

Urednika: doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, doc. dr. Tihomir Tomašič

Recenzenta: doc. dr. Anja Pišlar, doc. dr. Nace Zidar

Avtorji: asist. dr. Jasna Omersel, prof. dr. Borut Božič, prof. dr. Alojz Ihan, doc. dr. Martina Gobec, doc. dr. Nina Kočevar Glavač, izr. prof. dr. Mojca Lunder, Maja Štubljar, izr. prof. dr. Žiga Jakopin

Oblikovanje: doc. dr. Tihomir Tomašič

Založila: Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo

Tisk: Collegium Graphicum

Naklada: 250 izvodov

Kraj in leto izida: Ljubljana, 2017

Glavni namen knjige je podati aktualna znanstvena spoznanja o imunskem sistemu ter predstaviti farmacevtske pripravke, ki vplivajo na njegovo delovanje. Kljub skrbnemu delu je lahko v knjigi ostala posamezna tiskarska napaka. Avtorji, recenzenta, urednika in založnik ne prevzemajo odgovornosti za škodo, ki bi nastala z uporabo te knjige.

Kataložni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID=290466304

ISBN 978-961-6378-76-5 (pdf)

Uvodne besede

Imunski sistem je glavna obramba našega organizma pred patogeni, zato je njegovo brezhibno delovanje ključno za ohranjanje zdravega organizma. Sestavlja ga mreža specializiranih molekul, celic, tkiv in organov, katerih naloga je razločevati med telesu tujimi in lastnimi snovmi ter sprožiti imunski odziv le, ko je to potrebno. Na delovanje imunskega sistema lahko deloma vplivamo tudi sami, tako z zdravim življenjskim slogom kot tudi z raznimi farmacevtskimi pripravki. Zaradi kompleksnosti imunskega sistema pa lahko pride tudi do številnih motenj, ki se odražajo najpogosteje v šibkejšem, lahko pa tudi v močnejšem ali manj specifičnem delovanju, kar vodi do raznih infekcijskih obolenj, raka in avtoimunskih bolezni.

V uvodnem poglavju zbornika se bomo osredotočili predvsem na delovanje imunskega sistema na celičnem nivoju, v nadaljevanju pa izpostavili specifičnost imunskega sistema pri otrocih in starostnikih. To bo osnova za razumevanje delovanja predstavljenih pripravkov za krepitev imunskega sistema, ki so predvsem v obdobjih, ko so pogostejša virusna obolenja, predmet neprestanega oglaševanja in povpraševanja. V sledečih poglavjih bomo tako predstavili aminokisline, minerale, vitamine, pripravke rastlinskega izvora ter probiotike, ki spodbujajo delovanje imunskega sistema. Pri tem bomo poskusili odgovoriti na vprašanja kdaj, katere in koliko časa je potrebno jemati izbrane farmacevtske pripravke, pri čemer se moramo zavedati, da zaradi kompleksnosti delovanja imunskega sistema enostavnih odgovorov ni. Temu bo sledil še pogled lekarniškega farmacevta, kar bo kot celota predstavljalo dobro osnovo za pravilno svetovanje, zlasti v primeru bolj rizičnih skupin, kot so otroci in starostniki. V zadnjem poglavju se bomo dotaknili tudi vedno pereče teme cepiv, pri čemer bomo med drugim predstavili tudi znanstveni vidik povezave med uporabo živo srebrovih spojin in avtizma.

Upava, da boste pri branju prispevkov izvedeli čim več koristnih in novih informacij, ki vam bodo v pomoč pri strokovnem delu, svetovanju pacientom v lekarni ali pri informiranju širše javnosti o delovanju in vplivanju na imunski sistem - temi, ki vedno poraja veliko vprašanj.

doc. dr. Mirjam Gosenca Matjaž, mag. farm., in doc. dr. Tihomir Tomašič, mag. farm.

Kazalo

Imunski sistem: obramba našega telesa	7
<i>asist. dr. Jasna Omersel, mag. farm., prof. dr. Borut Božič, mag. farm., spec. med. biokem.</i>	
Lastnosti imunskega sistema pri otroku in pri procesu staranja	19
<i>prof. dr. Alojz Ihan, dr. med., spec. klin. mikrobiol.</i>	
Vloga vitaminov, mineralov in aminokislin pri delovanju imunskega sistema	28
<i>doc. dr. Martina Gobec, mag. farm.</i>	
Sodobna fitoterapija in imunski sistem	39
<i>doc. dr. Nina Kočever Glavač, mag. farm.</i>	
Mikrobiota in imunski sistem – priložnosti za nove preventivne in terapevtske pristope	51
<i>izr. prof. dr. Mojca Lunder, mag. farm.</i>	
Prehranska dopolnila za krepitev imunskega sistema – pogled lekarniškega farmacevta	60
<i>Maja Štubljar, mag. farm.</i>	
Cepiva, živo srebro in avtizem? Razkritje in razblinjenje zloglasnega mita na znanstveni osnovi!	68
<i>izr. prof. dr. Žiga Jakopin, mag. farm.</i>	

Imunski sistem: obramba našega telesa

asist. dr. Jasna Omersel¹, mag. farm., prof. dr. Borut Božič^{1,2}, mag. farm., spec. med. biokem.

¹Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

²Univerzitetni klinični center Ljubljana, SPS Interna klinika, KO za revmatologijo

Povzetek

Imunski sistem vretenčarjev sestavlja prepletena mreža tkiv in organov, imunskih celic in vodotopnih molekul, ki zagotavljajo obrambo našega organizma. Učinkovitost prepoznavanja antigenov in ocena, kaj je nevarno in kaj je potrebno odstraniti, temelji na sodelovanju imunskih celic z neposrednim stikom z receptorskimi molekulami (T-celični receptor, B-celični receptor, receptorji poglobitnega tkivnoskladnostnega kompleksa) in na daljavo s topnimi prenašalci (citokini, protitelesa). Vrsta odziva in način odstranjevanja patogena iz organizma sta odvisna od predstavitve antigena s pomočjo antigen-predstavitvenih celic (monociti, makrofagi, limfociti B, dendritične celice) in posredovanja teh informacij limfocitom T (celice pomagalk, citotoksični limfociti T). Aktivacija celično posredovanih efektivskih mehanizmov ali humoralnega (protitelesnega) odziva v končni fazi zagotavlja odstranitev bakterij, okuženih ali spremenjenih celic, bakterijskih produktov ali lastnih spremenjenih molekul. Lastne izkušnje in spomin imunskega sistema, njegova povezanost z živčnim in hormonskim sistemom, mikrobioto in splošno fizično kondicijo posameznika pa neposredno ali posredno usmerjajo in zagotavljajo specifičnost in učinkovitost delovanja našega imunskega sistema.

Vsebina

1 UVOD

2 IMUNSKI SISTEM

2.1 Prirojena veja imunskega sistema

2.2 Pridobljena veja imunskega sistema

3 SODELOVANJE CELIC

3.1 Sodelovanje celic preko neposrednih stikov

3.1.1 Imunska sinapsa

3.1.2 T-celični receptorji

3.1.3 B-celični receptorji

3.1.4 Receptorji poglobitnega tkivnoskladnostnega kompleksa

3.2 Medcelično sodelovanje na daljavo

3.2.1 Citokini

3.2.2 Protitelesa

4 IMUNSKI ODZIV

4.1 Predstavitev antigena

4.1.1 Antigen-predstavitvene celice

4.1.2 Predstavitev izvenceličnega antigena

4.1.3 Predstavitev znotrajceličnega antigena

4.2 Celično posredovani efektivski mehanizmi imunskega sistema

4.2.1 Tipi efektivskih celic

- 4.2.2 Neposredna citotoksičnost specifičnih efektorskih celic
 - 4.2.3 Neposredna citotoksičnost nespecifičnih efektorskih celic
 - 4.2.4 Citotoksičnost s celicami pozne preobčutljivosti
- 4.3 Humoralno posredovani efektorski mehanizmi
 - 4.3.1 Izdelovanje protiteles in njihovi učinki
 - 4.3.2 Primarni in sekundarni imunski odziv na okužbo
- 5 IMUNIZACIJA – DOSEGANJE ODPORNOSTI
 - 5.1 Naravna imunizacija
 - 5.2 Umetna imunizacija
- 6 SKLEP
- 7 LITERATURA

1 UVOD

Vzdrževanje neokrnjenosti tako kompleksnih organizmov kot so vretenčarji, je zelo zahtevno. Človek je skozi evolucijo razvijal fizične in kognitivne sposobnosti, ki so mu na zavedni ravni omogočale preživetje v raznolikih geografskih okoljih in obrambo pred plenilci. Istočasno so se na nezavedni ravni prav tako razvijali mehanizmi obrambe pred napadalci, nevidnimi človeškemu očesu. Uporaba pasivne obrambe, sožitja, preventivne agresije na potencialnega napadalca ali neposrednega spopada so bili v veliki meri odvisni od informacij, ki jih je človek kot posameznik in kot vrsta dobil tako na nezavedni kot na zavedni ravni.

Sprejemanje informacij o zunanjem svetu poteka z neposredno reakcijo preko čutil (vidno, slišno, tipno itd.) in na manj opazni molekularni ravni, pri čemer je najučinkovitejši prav imunski sistem. Ena od njegovih glavnih nalog je ločevanje med našim in tujim. Toda to ne zadošča; neposredno na naših površinah (koža in sluznice) ter v našem organizmu je vsaj toliko prokariotskih kot lastnih evkariotskih celic - po nekaterih podatkih celo več - pa kljub temu ne poskušamo pobiti vseh, saj imamo od ustrezne simbioze celo korist. Torej je poleg prepoznavanja razlik med našim in tujim pomembno tudi razlikovanje med varnim in nevarnim in s tem posledično povezano tudi ustrezno ukrepanje.

2 IMUNSKI SISTEM

Imunski sistem je anatomsko težko opredeljiv, saj ni enoten organski sistem kot na primer obtočila. Sestavljajo ga organi oz. tkiva (kostni mozeg, vranica, priželjci, fetalna jetra, bezgavke itd.), celice (limfociti, makrofagi, dendritične celice itd.) in vodotopne molekule (citokini, komplement, protitelesa itd.). Te tri ravni je potrebno imeti v mislih, ko govorimo o imunskem sistemu in imunskih odzivih, saj so le-ti splet različnih obrambnih mehanizmov. V klasičnih učbenikih imunologije so obrambni sistemi vretenčarjev razdeljeni v več stopenj, od mehanskih ovir (poroženeli del kože, ciliarno gibanje v dihalih), preko nespecifičnih obrambnih mehanizmov (lizocim v solzah, klorovodikova kislina v želodcu), do nespecifičnega prirojenega (vnetje, fagocitoza) in specifičnega pridobljenega (protitelesa) imunskega odziva (1,2).

Danes razumemo povezanost vseh teh sistemov v celoto in tudi imunski sistem obravnavamo širše, t. j. kot obrambni sistem, ki vključuje mehanske prepreke, biološka in kemična orožja. Z njimi deluje naš organizem predvsem proti tistim dejavnikom, ki jih oceni kot nevarne in jih je potrebno uničiti ali odstraniti. Pri tem si imunski sistem pomaga z izkušnjami, pri čemer ločimo dva tipa izkušenj: izkušnje posameznika in izkušnje vrste. Imunski spomin na ravni posameznika predstavlja pridobljena veja imunskega sistema, medtem ko imunski spomin na ravni vrste ali evolucije predstavlja prirojena veja imunskega sistema. Sistema sta vselej povezana, med njima poteka stalna komunikacija, kar zagotavlja učinkovito obrambo našega organizma.

2.1. Prirojena veja imunskega sistema

Prirojena veja imunskega sistema je primarna in je vezana na evolucijski spomin. Čeprav je na klinični ravni videti nespecifična, saj je odziv podoben ne glede na patogen, je na submolekularni ravni odziv prirojenega dela imunskega sistema specifičen. Prepoznavna namreč molekulske strukture, ki so v evoluciji ogrožale obstoj večceličnih kompleksnih bitij.

Gre za tako imenovane s patogeni povezane molekulske strukture (pathogen associated molecular patterns, PAMP), kot so bakterijski ogljikovi hidrati in proteini, peptidoglikani, neobičajne nukleinske kisline, teihoična kislina itd. Te strukture se vežejo na posebne celične receptorje, ki jih uvrščamo med evolucijsko zgodnje oblike prirojenega imunskega odziva. Pri sesalcih ločimo dva tipa strukture prepoznavajočih receptorjev (pattern recognition receptors, PRR), in sicer endocitne in signalne. Med signalnimi receptorji so najpomembnejši Toll-u podobni receptorji (Toll-like receptors, TLR). To so enopeptidni membranski nekatalitični receptorji, ki se izražajo predvsem na obrambnih celicah, kot so makrofagi in dendritične celice. Aktivacija celic poteka pretežno preko dveh signalnih poti, in sicer poti jedrnega faktorja ojačevalcev kappa lahkkih verig aktiviranih limfocitov B (Nuclear factor kappa B, NFκB) in poti proteinskih kinaz (mitogen-aktivirani protein kinase, MAPK) (1,2).

2.2. Pridobljena veja imunskega sistema

Pridobljena veja imunskega sistema je evolucijsko sekundarna in gradi na izkušnjah na ravni posameznika, še vedno pa je ključna izmenjava informacij. Razlika je v informaciji, ko makrofag predstavi peptide predelanega mikroba limfocitu T, ali pa ko se limfocit T sreča z virusno okuženo lastno celico. Prvo je sporočilo o nevarnosti, drugo je nevarnost sama. Odziv mora biti različen, saj ne gre, da bi ubili sla, ki prinese slabo novico. Za sprejemanje tovrstnih informacij so pomembni membranski receptorji, imenovani poglobitni tkivnoskladnostni kompleks. Ne glede na ime je njihova glavna naloga predstavitev antigenov limfocitom T. Limfociti T namreč ne prepoznajo antigenov v cirkulaciji, temveč izključno v povezavi z molekulami na površini drugih celic. Tako humani limfocitni antigeni, kakor imenujemo poglobitni tkivnoskladnostni kompleks pri človeku, nadzirajo dovzetnost za okužbe, nastanek avtoimunskega odziva ter celično in protitelesno pogojene odzive.

Pomembna je dvojnost receptorjev poglobitnega tkivnoskladnostnega kompleksa – prepoznavanje neposredne ogroženosti (npr. z virusom okužena celica) ali pa posredne ogroženosti (prisotnost bakterije), pri čemer prvo vodi do uničenja, drugo pa do aktivacije protitelesnega odziva (1,2).

3 SODELOVANJE CELIC

Da lahko imunski sistem deluje učinkovito, celice med seboj sodelujejo na več ravneh. Fagociti in antigen predstavitvene celice prenašajo antigene v sekundarna limfatična tkiva. Limfociti B predelane antigene predstavijo limfocitom T. Limfociti T povzročijo aktivacijo limfocitov B. Protitelesa, ki jih proizvedejo limfociti B, se vežejo na antigen in nato na makrofage ter ojačajo fagocitozo in tako dalje; krog je sklenjen v pozitivni povratni zvezi.

Sodelovanje celic imunskega sistema poteka na dva načina:

- (i) preko neposrednih stikov receptorskih molekul oz. kompleksov
- (ii) na daljavo z vodotopnimi prenašalci ali mediatorji.

3.1. Sodelovanje celic preko neposrednih stikov

Celice, ki gradijo posamezen organ ali tkivo, so v stalnih stikih druga z drugo. Stiki niso samo mehansko dotikanje fosfolipidnih membran, temveč tudi organizirani receptorski stiki med

specifičnimi molekulami. Presledkovni, tesni in fokalni ali priležni stiki imajo na primer v endoteliju pomembno vlogo za tkivno integriteto, žilno permeabilnost in levkocitno migracijo. Večina imunsko sposobnih celic je gibljivih. Neposredne stike z drugimi celicami ustvarjajo občasno. Najpomembnejši neposredni stiki so tako imenovane imunske sinapse. Vanje so vključene nekatere specifične membranske receptorske molekule ali membranski molekulski kompleksi imunsko sposobnih celic, kot so T-celični receptorji, B-celični receptorji, receptorji poglobitnega tkivnoskladnostnega kompleksa, adhezijske molekule in molekule CD1 (3).

3.1.1 Imunska sinapsa

Imunska (ali imunološka) sinapsa je stik med imunsko sposobno celico in tujkom ali stik med dvema imunsko sposobnima celicama. Za proces, ki poteče v nekaj minutah po začetnih interakcijah med celico in antigenom oziroma drugo celico, je potrebno prestrukturiranje površinskih receptorjev limfocitov T. Imunska sinapsa zajema stike med (3):

- limfociti T pomagalkami tipa Th1 in antigen-predstavitvenimi celicami,
- limfociti T pomagalkami tipa Th2 in limfociti B,
- citotoksičnimi limfociti T in tarčnimi celicami,
- naravnimi celicami ubijalkami in tarčnimi celicami ter
- limfociti B in dendritičnimi celicami.

Imunska sinapsa omogoča prenos kompleksnih informacij, ki so ključne za pravilen imunski odziv, naj si bo to uničenje tarčne celice, diferenciacija celice ali sproženje protitelesnega odziva.

3.1.2 T-celični receptorji

Glavni receptorji limfocitov T so T-celični antigenski receptorji (TCR), ki so tudi med najpomembnejšimi receptorji za nastanek imunske sinapse. Sestavljeni so iz heterodimera T_i , pridruženi pa so mu polipeptidi, ki sestavljajo kompleks CD3. Dimer T_i je vezavni del receptorja in se razlikuje med celicami, sestavljen pa je iz variabilnega in konstantnega dela, podobno kot protitelesa. Dimer prepozna predelan antigen, povezan z molekulami glavnega tkivnoskladnostnega kompleksa, kompleks CD3 pa je vpleten v prenos signala in aktivacijo celic T (1,2).

3.1.3 B-celični receptorji

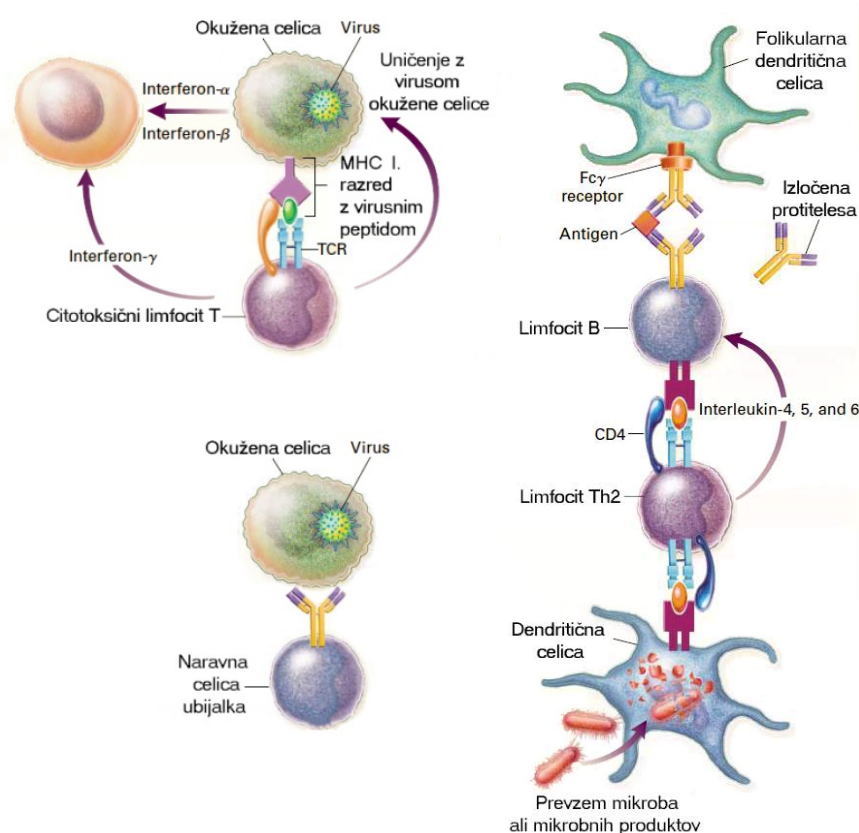
Glavne receptorske molekule limfocitov B so membranski imunoglobulini. Membranski imunoglobulini so kodirani in sestavljeni enako kot topna protitelesa, vezavna mesta za antigen pa so oblikovana v istem procesu. Razlika je v konstantnem delu težke verige, kjer imajo membranski imunoglobulini zaradi alternativnega izrezovanja na težki verigi podaljšani peptidni verigi, t. i. lipofilni rep, s katerim so sidrani v membrano in preko katerega poteče signalizacija v notranjost celice (1,2).

3.1.4 Receptorji poglobitnega tkivnoskladnostnega kompleksa

Pri človeku predstavljajo molekule poglobitnega tkivnoskladnostnega kompleksa (Major histocompatibility complex, MHC) humani levkocitni antigeni HLA. Njihova glavna naloga je predstavitev antigenov limfocitom T, na način, da slednji ustrezno reagirajo. Geni za

molekule sistema MHC se nahajajo na treh kromosomskih regijah, kar ustreza trem skupinam proteinov. V regiji I. razreda so geni za proteine, ki se izražajo na jedrnih celicah. Molekule MHC I. razreda predstavljajo antigene citotoksičnim limfocitom T CD8. V regiji II. razreda so geni za proteine, izražene na monocitih, makrofagih, dendritičnih celicah in limfocitih B. Proteini lokusov II. razreda predstavljajo antigene limfocitom T pomagalkam CD4 (Th1 in Th2). V regiji III. razreda niso geni za membranske, temveč za topne proteine komplementa in dejavnike tumorske nekroze (TNF) (1,2).

Molekule sistema MHC so izjemno raznolike – skupaj s protitelesi sodijo med najbolj raznolike velike molekule vretenčarjev. Izvori raznolikosti na genski ravni so heterozigotnost, alelni polimorfizem in polimorfizem posamičnih nukleotidov.



Slika 1: Imunski odziv in sodelovanje imunskih celic pri prepoznavanju in odstranjevanju virusa (levo) in bakterije (desno) (prirejeno po 7).

Imunski odziv na viruse in znotrajcelične bakterije je odvisen od vrste virusa, gostitelja, kraja vstopa in načina prehajanja v celice. Pri uničenju in odstranitvi virusa je glavni mehanizem naravne imunosti posredovan s topnimi dejavniki (interferon- α , interferon- β), ki jih izločajo z virusom okužene celice in aktivnostjo naravnih celic ubijalk. Z virusom okužena celica prične povečano izločati interferone, ki sočasno okrepijo delovanje naravnih celic ubijalk in povzročijo povečano izražanje MHC I. razreda na okuženih celicah. To omogoči učinkovito predstavljanje antigena citotoksičnim limfocitom T (T CD8+), kar privede do njihove aktivacije, ojača aktivnost nukleaz in izločanja IFN- γ , kar vodi do uničenja virusa.

Ob okužbi z bakterijami, ki se razmnožujejo zunaj gostiteljevih celic, poglavito vlogo za popolno uničenje mikroorganizma prevzamejo humoralno posredovani efektorski mehanizmi. Dendritične celice zajeti mikrob preko MHC II. razreda predstavijo naivnim limfocitom T CD4+. Ti začnejo izločati citokine (IL-4, IL-5) pomembne za proliferacijo limfocitov B in lokalno vnetje (IL-6). Protitelesa, ki jih izločijo limfociti B nato neposredno nevtralizirajo bakterijske toksine ali delujejo posredno, tako da preko receptorskega prepoznavanja ojačijo fagocitozo bakterijskega antigena.

3.2. Medcelično sodelovanje na daljavo

Medcelično sodelovanje poteka na daljavo s pomočjo topnih prenašalcev in mediatorjev. Ključne topne molekule medceličnega sodelovanja imunskega sistema so hormoni, citokini, protitelesa in akutno-fazni proteini.

3.2.1 Citokini

Citokini so neimunoglobulinska skupina majhnih glikoproteinov ali glikopeptidov, ki so vključeni v medcelično izmenjavo informacij. Citokini so zelo pomembni pri nadzoru razvoja imunskega odziva. Po vezavi na specifičen membranski receptor sprožijo signalne poti v celici in s tem izražanje specifičnih genov. Preko genske regulacije vplivajo in oblikujejo diferenciacijo in delitev krvnih celic ter aktivacijo limfocitov in fagocitov, vzdržujejo ravnovesje med toleranco in odzivom ter med zaviranjem in spodbujanjem imunskega sistema. Večina citokinov deluje zelo raznoliko ter sočasno na različne organske sisteme in celice (pleiotropično delovanje). Prav tako jih večina deluje na celice, ki jih niso proizvedle (parakrino delovanje), nekateri pa stimulirajo celico, ki jih je proizvedla (avtokrino delovanje). Delujejo lahko tudi daleč od mesta nastanka (endokrino delovanje). Pomembna lastnost citokinov je sinergizem v delovanju: ob delovanju dveh citokinov je odziv celice močnejši od vsote posamičnega delovanja, ali pa dva citokina skupaj sprožita reakcijo, ki jo posamezen citokin ne bi uspel. Nekateri med njimi delujejo kot levkocitotropni hormoni, ki vplivajo na hitrost, obseg ali jakost in na trajanje imunskega odziva. Interlevkin-2 (IL-2) je mediator razvoja limfocitov T, njegovo delovanje pa je ključno za T-celični imunski odziv. Podobno vlogo imajo pri limfocitih B IL-4, IL-6 in TNF-alfa (1,2).

Ločimo štiri razrede citokinov: (i) kolonije stimulirajoče dejavnike, (ii) interlevkine, (iii) dejavnike tumorske nekroze (tumor nekrotizirajoče faktorje, TNF) in (iv) interferone. Izraz limfokini je bil v osnovi mišljen za citokine, ki jih proizvajajo limfociti, kemokini pa so kemotaktični citokini iz različnih razredov, vendar s skupnim delovanjem in podobno molekulsko strukturo.

3.2.2 Protitelesa

Protitelesa so velike glikoproteinske molekule z bifunkcionalno strukturo, topne v telesnih tekočinah. Osnovna zgradba je pri vseh protitelesih podobna. Sestavljeni so iz štirih polipeptidnih verig v obliki črke T ali Y, med seboj stabiliziranih z disulfidnimi vezmi. Tečajni del omogoča spreminjanje kota med krakoma. Dve verigi sta krajši (220 aminokislin) in ju imenujemo lahki verigi, dve pa sta daljši (440 ali 550 aminokislin) in ju imenujemo težki verigi. Ločimo dva tipa lahkih verig, in sicer kapa in lambda, ter 5 tipov težkih verig, in sicer alfa, delta, epsilon, gama in mi. Glede na tip težke verige lahko protitelesa razdelimo v več razredov: A, D, E, G in M. Težka in lahka veriga sta sestavljeni iz konstantnih delov na karboksilnem koncu in iz variabilnih delov na amino koncu (1,2,4).

S hipervariabilno regijo ali paratopom se protitelesa specifično vežejo na bakterije, viruse, spremenjene molekule ali tuje molekule, torej na molekule, ki so povzročile njihov nastanek, ali pa so zadosti podobne, da je medmolekulska povezava možna. S konstantnim predelom težkih verig na karboksilnem koncu se protitelesa vežejo na receptorje na površini imunskih celic in sprožijo biološke učinke imunskega odziva, kot so aktivacija komplemента, ojačana fagocitoza, endocitoza in sproščanje citokinov (1,2,4).

4 IMUNSKI ODZIV

Ključna dejavnost imunskega sistema je ustrezen sprejem in obravnava informacij iz okolja in iz telesa. Imunski sistem se na osnovi informacij, ki jih prejema in obdeluje, odzove na različne načine, lahko pa jih tudi prezre. Pri tem razpolaga s široko paleto mehanizmov, orodij in orožij za učinkovito obrambo. Čeprav so v vseh mehanizmi vpletene vse tri ravni imunskega sistema, torej organi oz. tkiva, celice in molekule, pa vendarle ločujemo tiste mehanizme, pri katerih so ključni igralci celice, in tiste, ki v končni fazi delujejo na osnovi topnih dejavnikov tudi v odsotnosti celic. Med celično pogojene efektorske mehanizme prištevamo citotoksično delovanje specifičnih in nespecifičnih efektorskih celic ter citotoksičnost pozne preobčutljivosti. Efektorske celice imunskega sistema so limfociti, aktivirani makrofagi in naravne celice ubijalke. Med humoralno pogojene efektorske mehanizme prištevamo nastanek protiteles ter delovanje citokinov in komplemента. Protitelesni odziv je učinkovit za obravnavo zunajceličnih antigenov ali zunajceličnih mikrobov, ne pa za znotrajcelične mikrobove, viruse in tumorsko spremenjene celice. Kateri izmed odzivov se bo sprožil je odvisno od antigenske predstavitve (1,2).

4.1. Predstavitev antigena

Nosilci informacij imunskega sistema so izvencelični in znotrajcelični antigeni. Njihova predstavitev določa, kako se bo imunski sistem nanje odzval. Predstavitev antigena je funkcija medceličnega sodelovanja, pri čemer so bistvene antigen-predstavitvene celice (APC).

4.1.1 Antigen-predstavitvene celice

Za ustrezno predstavitev antigenov znotraj imunskega sistema so odgovorne APC, ki velike antigenske molekule deloma razgradijo in jih preko receptorjev MHC predstavijo limfocitom T. Pri tem ločimo dva tipa APC: (i) amaterske APC, ki predstavljajo antigen samo v posebnih okoliščinah, saj to ni njihova osnovna dejavnost (endotelijske celice, keratinociti, fibroblasti), in (ii) profesionalne APC, za katere je predstavljanje antigena ena od osnovnih dejavnosti. Med slednje sodijo monociti (cirkulacija), makrofagi (mikroglija v možganih, osteoklasti v kosteh, histociti v vezivu, Kupferjeve celice v jetrih), limfociti B in dendritične celice (1,2).

Dendritične celice so ključne APC in edine, ki lahko predstavijo antigen naivnim limfocitom T. Dendritične celice se med seboj razlikujejo po nastanku, lokalizaciji in specifičnih funkcijah. Folikularne dendritične celice v limfnih vozlih vzdržujejo imunski spomin in so odgovorne za aktivacijo limfocitov B. Intersticijske dendritične celice v nelimfatičnih tkivih, največ v koži (Langerhansove celice), prestrezajo tuje antigenske molekule; po vezavi z antigenom nezrele intersticijske dendritične celice migrirajo v limfne vozle, kjer predstavljajo antigene naivnim limfocitom T CD4. Limfoidne ali plazmacitoidne dendritične celice v bezgavkah v coni limfocitov T povezujejo prirojeno in pridobljeno imunost proti virusom (1,2).

4.1.2 Predstavitev izvenceličnega antigena

Izvencelični antigeni so v odvisnosti od tipa zajeti APC bodisi z opsonizacijo in fagocitozo ali z receptorsko pogojeno endocitozo. V vseh primerih celica antigen razgradi na krajše peptide in ga nato predstavi na svoji površini v špranji receptorja MHC razreda II. Ta način predstavitve je namenjen informaciji o tipu nevarnosti, ki jo je potrebno poiskati in odstraniti. Informacijo sprejmejo limfociti T pomagalke tipa 1, ki podprejo vnetni proces z

makrofagi, limfociti in fibroblasti, s spodbujeno fagocitozo in proizvodnjo protiteles. Za samo aktivacijo je potrebnih več medceličnih interakcij oziroma več medceličnih neposrednih in posrednih stikov: interakcija med TCR in antigenskim peptidom v MHC II. razreda, stabilizacija tega kompleksa z dodatno vezavo koreceptorja CD4 z MHC II. razreda, povezava kostimulacijskega para CD28 na limfocitih T z B7 na APC in dodatna citokinska signalizacija (1,2).

4.1.3 Predstavitev znotrajceličnega antigena

Tudi znotrajcelični antigeni so praviloma preveliki za vezavo v špranjo receptorja MHC in morajo biti najprej razgrajeni. Znotrajcelični proteini, na katere se veže več molekul ubikvitina, so usmerjeni v proteasom, kjer se razgradijo na kratke peptide. Fragmenti se v endoplazemskem retikulumu naložijo na MHC I. razreda in so skupno predstavljeni na celični površini. Ta način predstavitve je namenjen informaciji, da je celica, ki predstavlja antigene na receptorju MHC I. razreda, nevarna svoji okolici in jo je potrebno odstraniti. Informacijo sprejmejo citotoksični limfociti T, ki so sposobni tarčno celico uničiti. Tudi v tem primeru je za učinkovit prenos informacije potrebnih več stikov – poleg neposrednega stika TCR in antigena v MHC I. razreda še stabilizacija s koreceptorjem CD8, povezava kostimulacijskega para CD28 na limfocitih T z B7 na APC in posredno signaliziranje preko citokinov, še zlasti IL-2, ki sproži razmnoževanje in diferenciacijo predhodnika citotoksičnih celic T (CTL) v efektorski tip CTL. Brez celovite in preverjene informacije citotoksično ubijanje celic ni izvedljivo (1,2).

4.2 Celično posredovani efektorski mehanizmi imunskega sistema

Osnovni celično posredovani efektorski mehanizem je delovanje različnih efektorskih celic imunskega sistema. Slednje odstranjujejo znotrajcelične bakterije, virusno okužene celice, tumorske celice, tuje presadke in lastne spremenjene celice. Citotoksično delovanje celic delimo na (i) neposredno citotoksično aktivnost specifičnih celic, (ii) neposredno citotoksično aktivnost nespecifičnih celic in (iii) pozno preobčutljivost.

4.2.1 Tipi efektorskih celic

Med specifične efektorske celice sodijo tri skupine limfocitov T: pomagalka tipa Th1 in tipa Th2 (T CD4+) ter citotoksični limfociti (T CD8+). V primerjavi z naivnimi limfociti se te celice aktivirajo hitreje, potujejo po drugih poteh, izražajo več adhezivnih molekul in izločajo topne in membranske efektorske molekule. Med nespecifične efektorske celice prištevamo makrofage, nevtrofilne in eozinofilne granulocite ter naravne celice ubijalke. Nespecifične efektorske celice delujejo s fagocitozo, lahko pa pridobijo s pomočjo protiteles podeljeno antigensko specifičnost (1,2).

4.2.2 Neposredna citotoksičnost specifičnih efektorskih celic

Glavni akterji neposredne citotoksičnosti so citotoksični limfociti T CD8+. Začetna faza citotoksičnega delovanja je vezana na prepoznavo molekul MHC I. razreda, nadaljevanje pa poteka preko liganda Fas ali po perforinsko-grancimski poti; oboje pa vodi v apoptozo tarčne celice. Apoptoza je programirana celična smrt, ki ne povzroči vnetja. Zgodnja faza apoptoze je fragmentacija vseh nukleinskih kislin v celici (jedrne, mitohondrijske, virusne), membrana endoplazemskega retikuluma pa se zlije z zunanjo membrano, ki začne brsteti. Celica nato razpade na apoptotična telesca. Vsebina celice se ne sprosti v okolico kot pri nekrozi, temveč

ostane v apoptotičnih brstih, ki jih fagocitirajo in predelajo makrofagi. Apoptoza je pomembna za organizirano odstranjevanje celic in tkiv, ne da bi se porušila njihova arhitektura (1,2).

4.2.3 Neposredna citotoksičnost nespecifičnih efektorskih celic

Tudi celice, ki niso antigensko specifične, lahko neposredno ubijejo tarčno celico. Naravne celice ubijalke (Natural killer, NK) so veliki granularni limfociti, ki predstavljajo prvo obrambo v fazi, ko se specifični citotoksični limfociti T šele razvijajo iz predhodnika. Naravne celice ubijalke ubijajo tarčne celice brez prepoznavanja kompleksa peptid-MHC. To je pomembno predvsem pri tumorskih celicah, ki ne izražajo molekul MHC (1,2).

Eozinofilni granulociti prav tako povzročijo zunajcelično ubijanje tarčne celice brez prepoznavanja MHC, in sicer s sproščanjem toksičnih molekul iz svojih granul, kot so poglavitni bazični protein (MBP), eozinofilni kationski protein (ECP) in eozinofilska peroksidaza (EPO). Eozinofilni granulociti predstavljajo efektorski sistem oksidativnega izbruha (1,2).

4.2.4 Citotoksičnost s celicami pozne preobčutljivosti

Aktivirani limfociti Th sproščajo po srečanju z nekaterimi antigeni množico citokinov, ki povzročijo vnetje. Reakcija poteka v dveh fazah. Faza senzibilizacije poteka do dva tedna po prvem stiku, efektorska faza pa nastopi v 24 h z vrhom v dveh do štirih dneh po drugem stiku. Omejeno vnetje tega tipa je velikega pomena za obrambo pred znotrajceličnimi patogenimi mikrobi in kontaktnimi antigeni, lahko pa povzroči občutno okvaro tkiv vključno z granulomom (1,2).

4.3 Humoralno posredovani efektorski mehanizmi imunskega sistema

4.3.1 Izdelovanje protiteles in njihovi učinki

Osnovni humoralni efektorski mehanizem je izdelovanje različnih protiteles, ki s svojimi biološkimi funkcijami izrazijo učinek imunskega sistema. Protitelesa omogočajo olajšano odstranjevanje zunajceličnih bakterij, bakterijskih produktov in lastnih spremenjenih molekul. Mehanizem delovanja je odvisen od razreda protiteles. Protitelesa IgG z vezavo nevtralizirajo toksine, z opsonizacijo pospešijo fagocitozo in z vezavo na antigen omogočijo aktivacijo komplementa. Protitelesa IgA preprečijo vezavo virusov in bakterij na črevesno sluznico, v obliki kolostruma pa predstavljajo prvo imunsko zaščito prebavil novorojenčka. IgM sodijo med stalno prisotna naravna protitelesa, ki so zelo učinkovita pri aktivaciji komplementa. Protitelesa IgE aktivirajo sproščanje vsebine znotrajceličnih granul, kar je pomembno pri obrambi pred večceličnimi paraziti (1,2,4).

4.3.2 Primarni in sekundarni odziv na okužbo

Protitelesni odziv se razlikuje, če se srečamo z mikrobom prvič ali ponovno. Takoj po prvem stiku z antigenom obstaja latentna faza, ko protiteles še ni. Ta nastanejo šele v dveh do štirih dne, in sicer prvi teden pretežno IgM, šele kasneje se pojavijo tudi IgG. Zaradi majhnega števila aktiviranih celic je primarni imunski odziv sorazmerno šibek in včasih celo nemerljiv. Toda tudi v tem primeru to zadošča za nastanek spominskih celic, limfocitov T ali B, ki ne proizvedejo protiteles, temveč samo preuredijo svoje gene. Ob ponovnem stiku z antigenom je latentna faza krajša, saj že obstajajo spominske celice s preurejenimi geni. Razmnoževanje

celic je takrat obsežnejše, kar hitro privede do nastanka velike količine protiteles IgG, ki eksponentno narašča, saj je aktiviranih mnogo celic. Protitelesa IgM nastajajo v manjših količinah. Proizvodnja protiteles je regulirana z več mehanizmi, med katerimi sta najpomembnejša homeostatsko uravnavanje z odstranitvijo dražljaja, ki je sprožil njihov nastanek, in idiotipska-antiidiotipska mreža (1,2,4).

5 IMUNIZACIJA – DOSEGANJE ODPORNOSTI

Imunizacija je naraven ali umeten postopek, s katerim je dosežena imunost, to je specifična odpornost na okužbo. Odpornost dosežemo z aktivnim delovanjem imunskega sistema ali pa z nekaterimi postopki, v katere imunski sistem ni neposredno vpleten, zato pravimo, da gre za pasivno imunizacijo (5,6).

5.1 Naravna imunizacija

Naravna imunizacija poteka brez posebne osredotočenosti človeka nanjo. Aktivna oblika naravne imunizacije je seveda okužba, ki je lahko klinično izražena ali pa tudi ne. Pasivni obliki naravne imunizacije sta intrauterini (transplacentarni) prenos protiteles IgG in prenos protiteles IgA z dojenjem (5,6).

5.2 Umetna imunizacija

Cepljenje ali vakcinacija je umeten postopek, s katerim aktivno ali pasivno dosežemo imunost. Pri tem vsaj deloma posnemamo naravne postopke imunizacije. Pasivna oblika umetne imunizacije je intravenska aplikacija imunoglobulinov ali antitoksinskega seruma (aplikacija specifičnih protiteles proti toksinu), aktivno obliko pa predstavlja vakcinacija z živimi oslavljenimi mikrobi, mrtvimi mikrobi ali njihovimi antigenskimi (imunogenimi) deli (5,6).

6 SKLEP

Imunski sistem vretenčarjev je izjemno heterogen in kompleksen sistem dejavnikov, ki vzdržujejo neokrnjenost organizma. Deloma ga pridobimo z rojstvom, deloma pa ga razvije posameznik v svojem življenju. Zaradi raznolikosti je tudi regulacija večplastna: po eni strani je reguliran z imunsko odzivnimi geni, ki opredeljujejo repertoar imunskega odziva; po drugi strani je delovanje pod nevroendokrinim vplivom, saj so limfatični organi oživčeni; po tretji strani ga lahko razumemo kot lasten homeostazni mehanizem z odstranjevanjem tujkov, pri čemer pa so vključeni tudi levkocitotropni hormoni, ki vplivajo na hitrost, obseg ali jakost in na trajanje imunskega odziva.

Optimalno delovanje imunskega sistema z namenom obrambe pred zunanjimi in notranjimi grožnjami je pri človeku zagotovljeno sedem do osem desetletij, torej tekom celotne življenjske dobe. Znano je, da odraščanje in staranje organizma vplivata na vse ravni imunskega sistema. Procesi preurejanja genov, oblikovanja delujočih protiteles, pomnožitve limfocitov in masovne proizvodnje protiteles ob akutni okužbi so energetsko in beljakovinsko zelo potratni tudi pri sicer zdravem posamezniku. Še več, s staranjem se izrazito spreminjata

tudi kvantiteta in vrsta cirkulirajočih in tkivnih imunskih celic, okrnjena je njihova funkcija in zmožnost ustreznega medceličnega signaliziranja. Funkcionalne spremembe limfocitov T neposredno vplivajo tudi na oslavljen protitelesni odziv na infekcije pri starejših. Tako pri dojenčkih, otrocih, odraslih in starostnikih je doseganje odpornosti poleg postopkov neposredne imunizacije odvisno tudi od splošnega stanja organizma, kot so ustrezna prehranjenost (proteini, vitamini, minerali), naspanost, izpostavljenost stresnim situacijam in spremembe hormonskega stanja, ki zavirajo naravno delovanje imunskega sistema.

7 LITERATURA

1. Delves P, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM.: Roitt's essential immunology, 12. izdaja, Oxford: Blackwell Science, 2011.
2. Abbas AK, Lichtman Ah, Pillai S.: Cellular and molecular immunology, 7. izdaja, Philadelphia Elsevier: Saunders, 2012.
3. Padhan K, Varma R. Immunological synapse: a multi-protein signalling cellular apparatus for controlling gene expression. Immunol. 2010;129(3):322-8.
4. Schroeder HW Jr, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. J Allergy Clin Immunol. 2010;125(2 Suppl 2):S41-52.
5. Javornik S. Cepiva. V: Cepljenje in cepiva - dobre prakse varnega cepljenja. Ljubljana: Sekcija za preventivno medicino SZD: Sekcija za klinično mikrobiologijo in bolnišnične okužbe SZD: Inštitut za varovanje zdravja. 2011:26-36.
6. Pinti M, Appay V, Campisi J, Frasca D, Fülöp T, Sauce D, Larbi A, Weinberger B, Cossarizza A. Aging of the immune system. Focus on inflammation and vaccination. Eur J Immunol. 2016;46(10):2286-2301.
7. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. Second of two parts. N Engl J Med. 2000;343(2):108-17.

Lastnosti imunskega sistema pri otroku in pri procesu staranja

Prof. dr. Alojz Ihan, dr. med., spec. klin. mikrobiol.

Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

Povzetek

Normalni imunski odziv otrok, zlasti novorojencev, je odvisen od več dejavnikov: razvitih pregrad in sluznic, razvitega imunskega odziva, ustrezno aktiviranih populacij limfocitov T in bakterijske flore, ki spodbuja imunski razvoj. Pri novorojencu številne imunske uravnave še niso razvite, zato lahko okužbe s patogeni povzročijo nezaželene motnje v uravnavanju imunskega odzivanja. Z leti imunski sistem dozori in pri večini ljudi preide v normalno obrambo proti okužbam. Pri starostnikih so opisane mnoge značilne spremembe prirojenega in pridobljenega imunskega odzivanja. Te spremembe pretežno pomenijo zmanjšano zmožnost imunskega odzivanja in uravnavanja in obenem vodijo v nastanek kroničnih vnetij. Staranje imunskega sistema je zato povezano z večjo občutljivostjo starostnikov za okužbe, hkrati pa je staranje imunskega sistema tudi vzrok za povečano nastajanje kroničnih vnetij, ki so v samem središču procesov staranja.

VSEBINA

1 IMUNSKI SISTEM

2 IMUNSKI SISTEM PRI OTROCIH

2.1 Novorojenčeva prebavna flora omogoči ustrezen razvoj imunskega sistema

3 STARANJE IN IMUNSKI SISTEM

3.1 Ali obstajajo markerji staranja imunskega sistema?

4 LITERATURA

1 IMUNSKI SISTEM

Imunski sistem je kompleksen organski sistem, sestavljen iz specifičnih organov imunskega sistema (npr. priželjc, bezgavke), imunskih tkiv (npr. limfatična tkiva sluznic) in posamičnih imunskih celic. Imunski sistem se podobno kot živčevje vključuje v delovanje večine telesnih tkiv in organov, pri čemer je pglavitna naloga imunskega sistema prepoznavanje in odstranjevanje tujkov, zlasti mikrobov, ki vdrejo v organizem. Med evolucijo so se razvile različne vrste imunskih celic, ki se med seboj ločijo predvsem glede mehanizmov, s katerimi razlikujejo tujke od lastnih telesnih celic, pa tudi glede mehanizmov, s katerimi povzročijo odstranitev tujkov (1, 2). Osnovne naloge imunskega sistema so:

(i) Receptorsko prepoznavanje telesu tujih molekul (t.j. kompleksnih molekul, ki niso proizvod lastnega genoma) in s tem tudi prepoznavanje mikroorganizmov.

(ii) Izbira in razvoj imunskega odziva in vnetja, ki ustreza vrsti okužbe (virusi, paraziti, znotraj- in zunajcelične bakterije, glive) in tkivu, kjer poteka okužba (sluznica, koža, kri, jetra, možgani, oko itd.). Ena od pomembnih vrst imunskega odziva proti tujkom je tudi tolerančni odziv.

(iii) Napad na tujek in njegovo odstranjevanje – spremljajoče vnetje ob tem okvarja normalno dejavnost tkiv in organov.

(iv) Imunski spomin kot posledica razmnoženih in diferenciranih imunskih celic, ki ob kasnejšem srečanju z enakim tujkom obnovijo enako vrsto imunskega odziva, kot se je izoblikovala ob prvotni okužbi.

Evolucijsko najpreprostejše obrambne celice so fagocitne celice, ki imajo za prepoznavanje tujkov receptorje za nekatere molekule, ki so skupne večjemu številu mikrobnih vrst. Med njimi je najbolj znana družina tollu-podobnih receptorjev (angl. Toll-like receptor, TLR). S tem fagocitne celice, zlasti makrofagi, prepoznajo vrsto okužbe (bakterijska, virusna, parazitska, glivična itd.) in z izločanjem mediatorjev – citokinov – usmerijo razvoj specifičnega (limfocitnega) imunskega odziva v ustrezno (protibakterijsko, protivirusno, protiparazitsko itd.) smer (3).

Limfociti so imunske celice, ki so s svojimi receptorji za antigen zmožne specifično prepoznavati tujke in se nanje ustrezno odzvati. To se zgodi v kaskadi imunskih reakcij, ki jo uravnavajo citokini, sproščeni pretežno iz aktiviranih celic T pomagalk in makrofagnih celic. Aktivacijo celic T pomagalk omogočijo antigen predstavitvene celice (makrofagi, limfociti B, dendritične celice), ki fagocitirane in predelane antigene predstavljajo na svoji površini v sklopu molekul MHC II (angl. major histocompatibility complex II) celicam T pomagalkam, sočasno pa zagotovijo tudi potrebne kostimulacijske signale. Pod vplivom citokinov se nato sprožita efektorski poti imunskega odziva – za spodbujevani antigen specifični protitelesni oziroma citotoksični imunski odziv. Obe vrsti odzivov specifično prepoznavata in odstranjujeta antigene, razlikujeta med telesu lastnim in tujim ter razvijeta imunski spomin, ki ob ponovnem stiku s povzročiteljem omogoča hitrejši in močnejši sekundarni (anamnestični) imunski odziv (1, 3).

Glavni nosilci specifične imunosti so nastajajoči limfociti, ki naseljujejo limfne organe. Limfociti T, nosilci celične imunosti, nastajajo v kostnem mozgu kot nezrele, nefunkcionalne celice T, v zrele imunokompetentne limfocite T (celice T pomagalk $CD4^+$ in $CD3^+$ ter citotoksične celice T $CD8^+$ in $CD3^+$) pa dozoriijo v priželjcu. Njihovo dozorevanje spremljata aktivacija in preurejanje genov za T-celični receptor (CD3). Limfociti B, nosilci t.i. protitelesne

humoralne imunosti, dozoriijo v imunokompetentne celice v kostnem mozgu. Njihovo dozorevanje je povezano z aktivacijo in preureditvijo imunoglobulinskih genov. Zrele celice B imajo membransko vezana IgM in IgG (4).

Aktivacija mirujočih celic T pomagalk je ključni dogodek slehernega imunskega odziva. Sproži se ob stiku ustreznega receptorskega kompleksa TCR (angl. T-cell receptor) celice T pomagalk s specifičnim peptidom, ki se predstavi v sklopu molekule MHC II na površini antigen predstavljajoče celice. Da aktivacija steče uspešno, so potrebne še dodatne specifične interakcije med antigen predstavljajočo celico in celico T pomagalko. V aktivirani celici T pomagalki nastajajo različni citokini, zlasti IL-2, ki je limfocitni rastni faktor z avtokrinim delovanjem. Pri tem nastanejo spominske celice, ki ob ponovnem stiku z antigenom sprožijo hitrejši in učinkovitejši sekundarni imunski odziv, in efektorske celice T pomagalk. Slednje se glede na citokinski profil diferencirajo kot celice Th1 (izločajo IL-2, IFN-gama in TNF-alfa, sodelujejo v reakcijah pozne preobčutljivosti in aktivirajo citotoksični T-celični imunski odziv) oziroma kot celice Th2 (sintetizirajo IL-4, IL-5, IL-6 in IL-10 in so učinkovitejše v aktivaciji protitelesnega imunskega odziva limfocitov B) (3).

2 IMUNSKI SISTEM PRI OTROCIH

Imunski sistem tvorijo imunske celice in vnetni mediatorji, katerih sestava in uravnavanje sta zapisana v genski informaciji posameznika. Zasnova za imunski odziv je zato prirojena in napake v sestavi ali uravnavanju sinteze proteinov, pomembnih za imunski ali vnetni odziv, vplivajo na lastnosti imunskega odziva, zlasti, kadar gre za napake pomembnih proteinov, ki so ključni za prepoznavanje tujkov ali uravnavanje vnetja. V teh primerih govorimo o **prirojenih imunskih primanjkljajih**, ki se klinično kažejo kot **pomanjkljiv imunski odziv** (neobičajno hude okužbe, zlasti oportunistične), **preobčutljivostno vnetje** (napačno izbran ali uravnavan imunski odziv, npr. atopija), **avtoimunsko vnetje** (okvarjena uravnava tolerance) ali **avtovnetna bolezen** (okvare inhibitornih vnetnih citokinov ali receptorjev, npr. mediteranska vročica (okvara gena MERV – nereguliran odziv Th1); deficit alfa1 antitripsina; ALPS – defekt receptorja Fas ali liganda Fas, defekti komplementnih inhibitorjev). Neredko gre pri bolniku za kombinacijo naštetih kliničnih stanj, npr. oportunistične okužbe kombinirane s hudimi alergijami, ali kroničnega vnetja kombiniranega z avtoimunskimi pojavi. Bolnika z motnjo imunskega odzivanja navadno označimo glede na najbolj moteč klinični pojav, čeprav bi podrobnejša analiza odkrila neke vrste imunski primanjkljaj, kot npr. pri atopikih, ki imajo manjšo tvorbo IFN- γ in počasneje povečujejo delež spominskih limfocitov T, a ne do stopnje, ko bi zboleli zaradi oportunističnih okužb, npr. oportunističnih mikobakterij.

Značilnost imunskega sistema je, da se izoblikuje v stiku s tujki, podobno, kot se živčevje izoblikuje v interakciji z dražljaji iz okolja. Med ontogenezo se imunske celice in anatomske strukture, ki niso odvisne od stika z mikrobi, razvijejo do konca prve polovice nosečnosti; limfne žile se oblikujejo od 6. fetalnega tedna, limfociti T so v krvi prisotni od 13. tedna, na antigene se limfociti T odzivajo od 18. do 22. tedna, od 20. tedna pa začnejo v fetalno kri prehajati materina protitelesa IgG. V drugi polovici nosečnosti tvori plod šibke protitelesne odzive na antigene, ki jih mati zaužije ali vdihaja, tudi plodovi limfociti T se specifično odzivajo in aktivirajo na jajčne beljakovine, β -laktoglobulin, pršico, mačje alergene in pelod (5).

Ob rojstvu ima otrok osnovne imunske celice in osnovne anatomske strukture (bezgavke, limfne žile), da se lahko odziva na tujke, po drugi strani pa nima diferenciranih imunskih tkiv in celic, ki za svoj razvoj potrebujejo mikrobo stimulacijo. Novorojenček je praktično brez limfnega tkiva v sluznicah: črevesni limfni folikli (angl. Gut-associated lymphoid tissue, GALT) se pojavijo po dveh tednih mikrobne stimulacije, enako velja za limfatična tkiva v dihalih (angl. Bronchus-associated lymphoid tissue, BALT). Še kasneje (čez mesec do dva) se izoblikujejo limfatična tkiva v slepiču, slinavkah in tonzilah. Zato se pri normalnem novorojencu ne tvorijo protitelesa IgA, ki se začno ob mikrobni stimulaciji tvoriti najprej v slinavkah (čez teden ali dva), kasneje pa v črevesju (čez mesec ali dva).

Celice T novorojencev imajo zmanjšano aktivnost, slabo tvorijo citokine, njihov »naravni« imunski odziv pa je Th2, razen če ni ob aktivaciji izrazitih stimulatorjev Th1 (npr. IFN- γ , LPS). Zaradi zmanjšane ekspresije proteina CD40L na limfocitih T, ki omogoča diferenciacijo Th1, je diferenciacija v odziv Th1 še otežena. Limfociti B imajo slabo zmožnost izotipskega preklopa (iz IgM v druge razrede protiteles), slabo zmožnost afinitetnega dozorevanja v bezgavkah in šibko zmožnost tvorbe protiteles.

Poleg primanjkljaja protiteles IgA ob rojstvu normalnemu otroku primanjkujejo tudi pomembni proteini naravne odpornosti, kot so amilaza, lizocim in laktoferin, ki so do rojstva sicer prisotni v slini, potem pa za nekaj tednov, verjetno zaradi učinka sesanja, povsem izginejo in se po enem mesecu ponovno začnejo pojavljati v slini. Zaradi kombinacije neugodnih dejavnikov, kot so neizoblikovana zaščitna flora, nezmožnost sinteze IgA, odsotnost proteinov naravne odpornosti v slini, nedozorel sluznični epitelij, je v prvem mesecu življenja otrok izjemno občutljiv na prodor patogenov skozi sluznico prebavil in dihal.

Sluznica prebavil je takoj po rojstvu zelo prepustna za makromolekule, zaradi hitrega dozorevanja pa praviloma v nekaj dneh postane zanje neprepustna, pri čemer imajo veliko vlogo citokini in hormoni v kolostrumu. Brez kolostruma, ki vsebuje tudi supresivne faktorje za sintezo IgE, imajo novorojenci praviloma več kasnejših infektov in več atopij.

Za razvoj imunskega sistema je najpomembnejših prvih 12 mesecev. Za ustrezen razvoj je zelo pomembna integriteta sluzničnega epitelija. Dobro merilo za integriteto epitelija je izginotje IgG v slini takoj po rojstvu. Uspešen razvoj sluznične imunske kompetence pa se kaže s porastom sIgA v slini in izginotjem IgD v slini v prvih šestih mesecih življenja (6).

2.1 Novorojenčeva prebavna flora omogoči ustrezen razvoj imunskega sistema

Imunski sistem se po rojstvu razvija ob stimulaciji z mikrobi, zlasti s po Gramu negativno bakterijsko floro, ki stimulatивно vpliva na dozorevanje imunskega sistema in znižuje možnost nepravilnega razvoja imunskega sistema, kot je to v primeru alergij. Bogatenje bakterijske flore, npr. zaradi stika z večjimi skupinami otrok, vpliva stimulatивно na razvoj imunskega sistema. Okužbe s patogenimi mikrobi, zlasti respiratornimi, v prvem letu življenja lahko okvarjajo normalen razvoj imunskega sistema, povzročajo motnje uravnavanja imunskega odziva in privedejo do pomanjkanja nastajanja IgA. Okužbe dihal med obdobji večjega padca ravni IgA v prvem letu življenja lahko sprožijo nepravilno uravnavanje vnetnega odziva in povzročijo povečano bronhialno hiperreaktivnost zaradi pretiranega razraščanja subepitelijskih nemieliniziranih živčnih vlaken ter razmnoževanja mastocitov, po drugi strani pa lahko povzročijo aktivacijo - receptorjev NK1 za substanco P na živčnih vlaknih

in limfocitih. Zato vsako, tako fizikalno kot kemično, draženje sluznice, ki povzroči sproščanje substance P, spodbuja razvoj imunskega vnetja preko aktivacije limfocitov T v sluznici.

Peroralno prehranjevanje stimulira mukozni imunski sistem, intravensko hranjeni novorojenci pa imajo upočasnen razvoj imunskih tkiv v sluznicah. Razlike v prehrani (dojenje ali formula) povzročijo različne vrste bakterijskih kolonizacij prebavil. Ustvarjena bakterijska flora prebavil odločilno vpliva na razvoj imunskega sistema. Materina protitelesa, ki se prenesejo preko placente in preko kolostruma ščitijo novorojenca pred okužbami, hkrati pa upočasnjujejo razvoj protiteles IgA. V zgodnjem materinem mleku je tudi precej imunosupresivnih snovi, ki zmanjšujejo tveganje za nastanek nekaterih kasnejših avtoimunskih (diabetes 1, atopije) in limfoproliferativnih bolezni. Dojenje večinoma tudi pospešuje imunsko odzivnost otrok proti patogenom (3).

Slaba prehranjenost (pod 80 % normalne teže za starost) je povezana s počasnejšim razvojem imunskega sistema po rojstvu in pogostimi okužbami, zlasti s pojavi driske. Pogosta posledica drisk je pomanjkanje vitamina A, ki dodatno oteži tvorbo protiteles, zlasti IgA, zato je pri podhranjenosti potrebno dodajati vitamin A. Proteinska podhranjenost razmeroma najbolj negativno vpliva na tvorbo IgA v solzah in slini skupaj s proteini nespecifične zaščite (lizocim), zato so bolj pogoste očesne okužbe.

Stresni hormoni nosečnic vplivajo zaviralno na dozorevanje imunskega sistema pri otroku. Limfociti se zato v prvih tednih po rojstvu težje aktivirajo, imunski odziv pa ostane še dalj časa po rojstvu nezrel – usmerjen v odziv Th2 in tolerančno reakcijo – in favorizira nastanek atopij. Materin stres med dojenjem preko kortizola v mleku zavira dozorevanje sluznične imunosti v tvorbo odziva IgA. Velik porodni stres zaradi travme ali okužbe zavre razvoj imunskega sistema. Izpostavljenost toksičnim snovem med nosečnostjo in po njej (npr. alkohol) zavre zmožnost imunskih celic za diferenciacijo in dozorevanje. Kajenje nosečnic povzroča zapoznelo dozorevanje sIgA pri novorojencih. Kadike imajo tudi manj protiteles IgA v mleku (7).

3 STARANJE IN IMUNSKI SISTEM

Staranje je programiran proces, v katerem se pri ljudeh telesne zmožnosti nekako od 35. leta dalje zmanjšujejo. Dolžina življenja je namreč programirana lastnost posamezne biološke vrste, ki podobno kot druge lastnosti bioloških vrst (velikost, teža, način gibanja, način hranjenja itd.) služi optimalnemu preživetju vrste. Krajše življenje omogoča vrsti večjo prilagodljivost glede na konkurenčne vrste in na spremembe naravnega okolja, daljše življenje pa bolj racionalno izrabo hranil v ekološki niši. Skupen rezultat prilagoditev na našete in še na nekatere druge dejavnike okolja določa optimum življenske dobe posameznika. Procesi staranja programirano zajemajo vsa tkiva, fiziološke in telesne funkcije in postopoma manjšajo njihovo kapaciteto (rezervo) za prilagajanje večjim obremenitvam. Živali v naravnem okolju navadno že pri relativno majhnem zmanjšanju svojih fizičnih ali presnovnih zmožnosti niso več uspešne v boju za preživetje. Pri ljudeh zaradi kulturnih in družbenih sprememb preživetje ni več zelo odvisno od fizičnih zmožnosti, zato se življenjska doba daljša, staranje pa poteka bolj v odvisnosti od kritičnega zmanjševanja fizioloških (celičnih, presnovnih, imunskih, žilnih) zmožnosti, ki jih s higiensko in/ali medicinsko podporo ni mogoče ustrezno vzdrževati in podpirati. Starostna izčrpanost trebušne slinavke (diabetes

2) je bila na primer nekoč smrtna bolezen, ki danes z ustrezno podporo ne pomeni več usodnega krajšanja življenjske dobe (8).

Osnovni programirani mehanizmi staranja (oksidativne poškodbe, hormonske spremembe, imunska neodzivnost, deregulacija vnetja in kancerogeneza) so podobni tako pri kratkoživečih vrstah (npr. miših) kot pri dolgoživečih vrstah (človeku). Tudi relativna dinamika starostnih sprememb, kot so pojavljanje posameznih sprememb in bolezni, je podobna pri vseh živalskih vrstah, zato je mogoče iz študij kratkoživečih vrst (vinske mušice, miši) pridobiti veliko podatkov o procesih staranja pri ljudeh. Imunski sistem je primer tkiva, ki kaže izrazite od starosti odvisne spremembe. Ker je ustrezno delovanje imunskega sistema zelo pomembno za delovanje celotnega organizma (obramba pred mikrobi in uravnavanje vnetja), je »staranje« imunskega sistema pomemben dejavnik staranja organizma kot celote. Zmanjšana imunska odzivnost in posledične okužbe lahko močno preobremenijo in okvarijo posamezna tkiva in organe starajočega se človeka, kar močno zmanjša njegovo življenjsko dobo (npr. pljučnica). Podobne posledice ima tudi slabše uravnavanje imunskega odzivanja in vnetja, ki pospešuje kronične vnetne spremembe, kot je npr. ateroskleroza (9).

Pri starostniku se imunske celice počasneje in manj silovito odzivajo na vdor mikrobov v telo, zlasti pa je prizadeta njihova natančnost pri razlikovanju med tujki (mikrobi) in lastnimi telesnimi celicami. Zmanjšana natančnost imunskih celic je verjetno povezana tudi s slabšo zmožnostjo prepoznavanja in kontrole rakastih celic, po drugi strani pa s povečano občutljivostjo za nastanek bolezni, ki so povezane s slabo kontrolo vnetja (npr. bolezni srca in ožilja, Alzheimerjeva bolezen) ali avtoimunosti (npr. revmatoidni artritis). Posameznih dejavnikov, ki prispevajo k starostnemu upadu imunskih funkcij je veliko in pogosto je težko ugotoviti, ali so primarno spremenjene imunske funkcije, ali pa slabše funkcioniranje drugih tkiv (sluznic, krvnega obtoka) povzroča večjo verjetnost okužb, ki privedejo k spremembam imunskega odzivanja (10).

S starostjo povezano zmanjšano imunska odzivnost opazimo pri vseh bioloških vrstah v njihovem obdobju staranja, ne glede na njihovo absolutno dolžino življenja. Pri ljudeh je prav zmanjšana imunska odzivnost med glavnimi dejavniki obolevnosti in smrtnosti starejših. S starostjo se predvsem zmanjša odzivanje na nove okužbe, zmanjšano pa je tudi odzivanje na cepiva (11).

Biološke spremembe, ki v starosti povzročajo upad imunskih funkcij, so najprej povezane z zmanjšanim nastajanjem novih imunskih celic. Imunske celice nastajajo v kostnem mozgu, tam pa se s staranjem zmanjšuje razmnoževanje hematopoetskih izvornih celic zaradi oksidativnih poškodb in krajšanja telomer. Starostno zmanjšana aktivnost kostnega mozga privede tudi do zmanjšane proizvodnje imunskih celic – fagocitnih celic, celic naravnih ubijalk (NK) in limfocitov B. Zlasti krvna koncentracija limfocitov B, ki je najbolj neposredno povezana s hitrostjo limfopojeze v kostnem mozgu, je dober odraz »biološke starosti« imunskega sistema (12). Ob zmanjšani koncentraciji imunskih celic v krvi se pri starostniku zmanjša tudi dejavnost fagocitnih celic (protibakterijsko delovanje) in celic NK (protivirusno in protitumorsko delovanje) (13).

Verjetno najbolj izrazito pa staranje vpliva na delovanje limfocitov T. Proizvodnja limfocitov T je odvisna od aktivnosti kostnega mozga, kjer nastajajo predhodniki limfocitov T, ki se preko krvi selijo v timus. Še večja omejitev nastajanja limfocitov T je timus, ki se že po drugem desetletju življenja močno zmanjša, hkrati pa se zmanjša tudi količina v timusu nastalih zrelih

»naivnih« limfocitov. Že v tretjem desetletju starosti ima človek le še desetino ali dve desetini naivnih limfocitov T, njihov delež pa v nadaljnjih desetletjih strmo pada. Količina limfocitov T se pretežno vzdržuje z delitvijo zrelih limfocitov T na periferiji (pod vplivom citokinov IL-7, IL-15, IL-2). Po drugi strani pa se količina limfocitov B vzdržuje zaradi stalne produkcije novih v kostnem mozgu (pod vplivom citokina IL-7) in je zato količina limfocitov B dober odraz dejavnosti kostnega mozga.

Med staranjem se zato močno zmanjša zmožnost odzivanja na nove vrste okužb, obenem pa se zaradi pomanjkanja naivnih limfocitov T, natančneje limfocitov CD45RA in med njimi zlasti limfocitov CD31 – celic RTE (angl. recent thymic emigrants) med imunskim odzivanjem proti tujku ne ustvari ustreznega uravnavanja imunskega odziva, kajti uravalne celice, kot so regulatorni limfociti T (angl. regulatory T cells, Treg), se pretežno diferencirajo neposredno iz sveže nastalih naivnih limfocitov T. Zato pri starostnikih številni avtorji opisujejo spremenjene citokinske odzive med imunskim odzivanjem, kajti ravno »sveži« naivni limfociti T so najboljši vir regulatornih limfocitov Treg, ki lahko ustrezno razvijejo citokinsko sintezo glede na razmere in potrebe v zvezi z aktualno okužbo. Zaradi manjše zmožnosti oblikovanja novih imunskih odzivov na okužbe se pri starejših ob okužbah v večji meri aktivirajo že ustvarjeni spominski imunski odzivi. Pri tem gre za dodatno razmnoževanje predvsem citotoksičnih limfocitov T (CD8), katerih raznolikost T-celičnih receptorjev je revnejša kot pri mlajših ljudeh, posledično pa je tudi izbira antigena pri mikrobih praviloma manj ustrezna. Zaradi manj ustreznih in slabše uravnanih imunskih odzivov se povzročitelji okužb počasneje odstranijo, posledično pa se podaljša trajanje vnetja. Zaradi pomanjkanja Treg je manjše tudi izločanje citokinov, ki zaustavijo vnetje po okužbi, zato imajo starejši ljudje tendenco podaljševanja vnetnega odzivanja (14).

V starosti se znatno poveča delež γ/δ -dvojno negativnih limfocitov T (DNT) (CD4- CD8-) (γ/δ DNT). γ/δ DNT so limfociti T, ki imajo namesto običajnega tipa T celičnega receptorja ($TCR\alpha/\beta^+$) drug tip receptorja ($TCR\gamma/\delta$). Ta receptor ima manjšo raznolikost za prepoznavanje tujkov (antigenov), vendar pa lahko antigene, podobno kot protitelesa, prepozna neposredno in ne potrebuje predstavljanja preko antigen-predstavitvenih celic. γ/δ DNT pri starostniku verjetno pomenijo nadomeščanje upadlega delovanja običajnih limfocitov T in s tem posredno kažejo na »staranje« imunskega sistema (6). Poleg tega lahko pri starostniku zasledimo še povečano količino α/β DNT – to so zaradi številnih delitev izčrpani običajni α/β limfociti T, ki se niso več zmožni odzivati na tujke, pač pa proizvajajo veliko količino citokinov za zaviranje imunskega odziva (IL-10). α/β DNT nastajajo v večjih količinah v primeru kroničnih aktivacij imunskega sistema – na primer pri avtoimunskih boleznih ali avtoimnetnih boleznih (tipično pri ALPS-u, avtoimunskem limfoproliferativnem sindromu). Povečana količina α/β DNT je torej znak kroničnega imunskega pogojenega vnetja, ki prav tako močno pospešuje procese staranja (8).

Poleg celic DNT je pri starostnikih pogosto povečano tudi število krvnih CD4/CD8 dvojno pozitivnih limfocitov T (CD4/CD8 limfociti T). Ti limfociti proizvajajo predvsem citokin interferon γ in se občasno pojavijo tudi pri zdravih ljudeh, bolj pogosto pa pri kroničnih vnetnih boleznih, kroničnih virusnih okužbah in tumorjih (15).

Čeprav so starostne spremembe imunskih funkcij najbolj opazne pri delovanju limfocitov T, pa je prizadeto tudi protitelesno odzivanje. S starostjo značilno upadajo koncentracije limfocitov B, kar odraža predvsem upad delovanja kostnega mozga. Med limfociti B je zlasti zmanjšan delež naivnih limfocitov B (CD27-), temu ustrezno pa pri starostniku upadajo

plazemske koncentracije protiteles IgM in IgD. V starosti se znatno poveča delež dvojno negativnih limfocitov B (DNB) (IgD-CD27-), ki so pretežno IgG+ spominski limfociti B. DNB so izčrpane spominske celice, ki ne morejo več sodelovati z limfociti T (16).

Zaradi pomanjkanja ustreznih limfocitov T se limfociti B aktivirajo na način, ki je neodvisen od limfocitov T. Zato nastajajo protitelesa, ki so večinoma usmerjena proti sladkornim antigenom črevesnih bakterij (IgG2) in imajo manjšo raznolikost vezišč za antigene. Ustrezno temu so taka protitelesa manj učinkovita v obrambi proti novim okužbam, obenem pa s svojo vezavo na sicer neškodljive molekule črevesnih bakterij povzročajo kronično aktivacijo vnetja v črevesni sluznici. Zato pri starostniku ni nujno, da se mu zmanjšuje koncentracija protiteles v plazmi (to je bolj znak stradanja in/ali katabolnega tipa presnove), pač pa so protitelesa manj funkcionalna ali celo patološka (avtoimunost, preobčutljivost). Kot že omenjeno, s starostjo upade tudi proizvodnja limfocitov B v kostnem mozgu, kar še dodatno osiromaši kvaliteto protitelesnega odzivanja (17, 18).

Odziv na cepljenje je v starosti značilno spremenjen, titer in afiniteta protiteles po cepljenju sta manjša. V bezgavkah s starostjo zaradi motenega predstavljanja antigenov slabše poteka afinitetno dozorevanje limfocitov B, zato se afiniteta protiteles pri kroničnih okužbah počasneje povečuje. Zaradi zmanjšanega nastajanja naivnih limfocitov B v kostnem mozgu in kompenzatornega razmnoževanja pretežno spominskih limfocitov B se zmanjšuje raznolikost protitelesnih vezišč, ki so na voljo za obrambo pred mikrobi (11).

3.1 Ali obstajajo markerji staranja imunskega sistema?

Nedvomno drži, da staranje prinese številne in značilne spremembe imunoloških parametrov, manj pa je opredeljeno, katere od teh sprememb pomenijo pomembno motnjo v delovanju imunskega sistema in uravnavanja vnetja, ki nato neposredno vpliva na funkcionalnost organizma in dolžino njegovega preživetja. Iz imunskega statusa starejših ljudi je težko sklepati, kaj se je s preiskovanci dogajalo tekom njihovega življenja in kakšen je bil vpliv genetike, okolja, prehrane in obremenitev. Vseeno se je iz takih raziskav oblikoval koncept »imunskega profila tveganja« (angl. immune risk profile, IRP), ki z merjenjem nekaterih parametrov imunskega statusa opredeli tveganje 55-letnika za umrljivost v naslednjih 10, 20 in 30-letih (17).

Raziskave ljudi, ki so dočakali visoko starost kažejo, da imajo v krvi značilno večjo koncentracijo limfocitov B in med njimi zlasti večji delež naivnih limfocitov B (IgD+CD27-). Večja koncentracija teh »mladih« celic odraža boljšo hematopoetsko zmožnost kostnega mozga in hkrati boljšo zmožnost imunskega odzivanja z natančnim, dobro uravnanim protitelesnim odzivom. Ljudje, ki doživijo visoko starost, imajo med 50 in 60 letom tudi manj avtoimunskih protiteles in manjši delež limfocitnih populacij, ki kažejo na izčrpanost imunskega sistema (celic DNB, DNT, α/β DNT) (17).

Nekatere epidemiološke raziskave ugotavljajo tudi večjo smrtnost pri citomegalovirus (CMV) -pozitivnih starostnikih, povezave pa so še bolj značilne pri hkratni koinfekciji z virusi hepatitisa A ali B. Pri CMV pozitivnih starostnikih je tveganje za umrljivost še nadalje povečano pri večjih titrih anti-CMV protiteles. Taki ljudje imajo značilno povečan nivo C-reaktivnega proteina ter večjo verjetnost za razvoj diabetesa in drugih kroničnih vnetnih bolezni. Okužbe z drugimi herpesvirusi (EBV, HSV, VZV) nimajo tako velikega prognostičnega pomena za preživetje 50 – 60 letnikov kot infekcija s CMV. Tak izjemen položaj CMV

imunskega statusa navaja na domnevo, da je okužba s CMV v naravnem okolju morda nekoč pomenila prednost za gostitelja, ki se je zaradi vnetno bolj aktivnega imunskega odzivanja lažje ščitil pred drugimi okužbami. Obratno pa pri današnjih starostnikih taka okužba pomeni zgodnejše izčrpanje imunskega sistema in aktivacijo nepotrebnih vnetij, ki pospešujejo procese staranja (14).

4 LITERATURA

1. Santaella ML, Cox PR, Colon M, Ramos C, Disdier OM. Rheumatologic manifestations in patients with selected primary immunodeficiencies evaluated at the University Hospital. *Health Sci J*. 2005; 24:191-5.
2. Cesta MF. Normal structure, function, and histology of mucosa-associated lymphoid tissue. *Toxicol Pathol*. 2006;34:599-608.
3. Grunebaum E, Sharfe N, Roifman CM. Human T cell immunodeficiency: when signal transduction goes wrong. *Immunol Res*. 2006;35:117-26.
4. Lewis DE, Harriman GR. Cells and tissues of the immune system. In: Rich RR, Fleisher TA, Kotzin BL, Shearer WT, Schroeder WH Jr, eds. *Clinical immunology: principles and practice*. 2nd ed. London: Mosby; 2001. p. 2.1–2.21.
5. McCloskey TW, Cavaliere T, Bakshi S et al.. Immunophenotyping of T lymphocytes by three-color flow cytometry in healthy newborns, children, and adults. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 84: 46–55.
6. Holcar M, Goropevšek A, Ihan A, Avčin T. Age-Related Differences in Percentages of Regulatory and Effector T Lymphocytes and Their Subsets in Healthy Individuals and Characteristic STAT1/STAT5 Signalling Response in Helper T Lymphocytes. *J Immunol Res*. 2015;2015:352934.
4. Smith MD, Ahern MJ, Brooks PM, Roberts-Thomson PJ. The clinical and immunological effects of pulse methylpred-nisolone therapy in rheumatoid arthritis. II. Effects on immune and inflammatory indices in peripheral blood. *J. Rheumatol*. 1988;15: 233–7.
7. Tarbox J. A., Keppel M. P., Topcagic N., et al. Elevated double negative T cells in pediatric autoimmunity. *Journal of Clinical Immunology*. 2014;34(5):594–599.
8. Al-Mawali A., Pinto A. D., Al Busaidi R., Al-Zakwani I. Lymphocyte subsets: reference ranges in an age- and gender-balanced population of Omani healthy adults. *Cytometry A*. 2013;83(8):739–744.
9. Bruunsgaard H: The clinical impact of systemic low-level inflammation in elderly populations. With special reference to cardiovascular disease, dementia and mortality. *Dan Med Bull* 2006, 53:285-309.
10. Licastro F, Candore G, Lio D, Porcellini E, Colonna-Romano G, Franceschi C: Innate immunity and inflammation in ageing: a key for understanding age-related diseases. *Immun Ageing* 2005, 2:8.
11. Weinberger B., Herndler-Brandstetter D., Schwanninger A., Weiskopf D., Grubeck-Loebenstien B. Biology of Immune Responses to Vaccines in the Elderly. *Clin Infect Dis* 2008;46(7):1078-84.
12. Colonna-Romano G, Aquino A, Bulati M, Di Lorenzo G, Listì F, Vitello S: Memory B cell subpopulations in the aged. *Rejuvenation Res* 2006, 9:149-52.
13. Z. Illes, H. Waldner, J. Reddy, E. Bettelli, L. B. Nicholson, and V. K. Kuchroo
T Cell Tolerance Induced by Cross-Reactive TCR Ligands Can Be Broken by Superagonist Resulting in Anti-Inflammatory T Cell Cytokine Production. *J. Immunol*. 2005 175:1491-1497.
14. Pawelec G, Derhovanessian E, Larbi A, Strindhall J, Wikby A: Cytomegalovirus and human immunosenescence. *Rev Med Virol* 2009, 19:47-56.
15. Chidrawar S, Khan N, Wei W, McLarnon A, Smith N, Nayak L, Moss P: Cytomegalovirus-seropositivity has a profound influence on the magnitude of major lymphoid subsets within healthy individuals. *Clin Exp Immunol* 2009, 155:423-32.
16. Caruso C, Candore G, Colonna-Romano G, Lio D, Franceschi C: Inflammation and life-span. *Science* 2005, 14:208-9.
17. Goronzy J. J., Li G., Yu M., Weyand C. M. Signaling pathways in aged T cells—a reflection of T cell differentiation, cell senescence and host environment. *Seminars in Immunology*. 2012;24(5):365–372.

Vloga vitaminov, mineralov in aminokislin pri delovanju imunskega sistema

doc. dr. Martina Gobec, mag. farm.

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

Povzetek

Uravnan vnos hranil zagotavlja homeostazo človeškega organizma, zaradi česar predstavlja uravnotežena prehrana pomemben pristop pri ohranjanju zdravja ali celo njegovem izboljšanju. Pri ohranjanju zdravja pomembno vlogo zagotovo igra imunski sistem, ki je veliko bolj dinamičen in kompleksen, kot smo prvotno mislili. Zaradi tega dejstva je vrednotenje vloge hranil na imunski odziv še posebej zahtevno. V sklopu tega prispevka se bomo osredotočili na nekaj izbranih aminokislin (glutamin, arginin, triptofan in aminokisline z razvejano stransko verigo), vitaminov (vitamini A, B, C, D in E) in mineralov v sledovih (selen, cink in železo). Merilo za izbor izbranih hranil temelji na številu, kakovosti in relevantnosti študij, ki obravnavajo posamezna hranila. Za opisane aminokisline, vitamine in minerale obstajajo celostne študije, s čimer je omogočena kakovostna obravnava njihovih vlog v imunskem odzivu.

Vsebina

1 UVOD

2 AMINOKISLINE: VEČ KOT LE GRADNIKI IN VIR ENERGIJE

2.1 Glutamin

2.2 Arginin

2.3 Triptofan

2.4 Aminokisline z razvejano verigo (BCAA): valin, levcin, izolevcin

3 VITAMINI: DOBRI ZNANCI IMUNSKEGA SISTEMA

3.1 Vitamini B (B₆, B₁₂, folna kislina)

3.2 Vitamin C

3.3 Vitamin A

3.4 Vitamin D₃

3.5 Vitamin E

4 MINERALI V SLEDOVIH: NEODKRITE VLOGE

4.1 Selen

4.2 Cink

4.3 Železo

5 SKLEP

6 LITERATURA

1 UVOD

Ustrezen vnos hranil je eden izmed najbolj učinkovitih načinov zmanjševanja težav, ki lahko spremljajo številna bolezenska stanja. Dejstvo je, da sodobne raziskave na področju nutricionistike zagotovo prispevajo k novim spoznanjem za izboljšanje zdravja. Še zlasti pomembno vlogo v sklopu teh študij ima segment, ki se osredotoča na vpliv hranil na delovanje imunskega sistema (1). Ugodne vplive hranil so dokazali za številne vitamine, aminokisline, minerale in maščobne kisline. Raziskav na tem področju je veliko, v sklopu tega prispevka pa bo poudarek predvsem na tistih hranilih, za katere je največ nedvoumnih dokazov o njihovih vplivih na imunski sistem.

2 AMINOKISLINE: VEČ KOT LE GRADNIKI IN VIR ENERGIJE

Vloga aminokislin v imunskem sistemu je nesporna, saj so nujne za nastanek specifičnih proteinov, protiteles in citokinov. Poleg vloge osnovnih gradnikov pa imajo aminokisline tudi dodatne imunoregulatorne vloge, na kar nakazuje predvsem dejstvo, da proteinska podhranjenost vodi v motnje delovanja imunskega sistema ter da dodatek aminokislin vodi v njegovo izboljšanje. Raziskave so pokazale, da številne aminokisline uravnavajo proliferacijo in aktivacijo limfocitov in makrofagov, vplivajo na znotrajcelično redoks stanje ter posredno ali neposredno uravnavajo izražanje genov za nastanek protiteles in citokinov. Med številnimi esencialnimi in ne-esencialnimi aminokislinami velja izpostaviti predvsem vloge glutamina, arginina, triptofana in aminokislin z razvejano verigo.

2.1 Glutamin

Med aminokislinami najdemo v telesu največ glutamina (Gln, Q). Za celice imunskega sistema je izjemno pomemben, saj deluje na več nivojih:

- Je substrat za pridobivanje energije. Nekatere imunske celice porabljajo Gln celo v večjem obsegu kot glukozo (2,3).
- Je vir dušika za sintezo purinskih in pirimidinskih nukleotidov, ki so nujni za *de novo* sintezo DNA in RNA tekom proliferacije in aktivacije imunskih celic, predvsem limfocitov T (4,5).
- Je pomemben prekurzor za sintezo glutamata (in nekaterih drugih spojin). Posredno ima tako tudi antioksidativne učinke, saj iz glutamata nastaja glutation, ki predstavlja eno izmed ključnih molekul pri omejevanju oksidativnega stresa v celici (4,6).
- Izboljša fagocitno sposobnost makrofagov in zavira apoptozo v nevtrofilcih (7,8).

Pri srčno-pljučnem obvodu se pogosto pojavi sistemsko vnetje. Na živalskih modelih so opazili, da so podgane, ki so en teden pred posegom prejemale Gln, imele značilno manjši obseg vnetja kot kontrolne podgane brez dodatka Gln. Rezultati torej kažejo na pozitivne učinke Gln in potencialno smiselnost dodajanja te aminokisline pred posegi na srcu (9). V ločeni študiji so preverjali, kako dodatek Gln vpliva na gastrointestinalni trakt (GIT). Opazili so, da dodatek Gln vodi v izboljšanje integritete črevesne stene in delovanja limfoidnega tkiva v črevesju, zaradi česar se zniža obseg prehoda bakterij preko črevesja v telo ter

zmanjša obseg vnetij (10). Dodatno velja omeniti tudi več kliničnih študij, pri katerih so proučevali vpliv povečanega vnosa Gln (enteralno ali parenteralno) pri kritično bolnih (npr. travme, sepsa, večje operacije, transplantacije kostnega mozga itd.). Rezultati kažejo na to, da dodatek Gln pozitivno vpliva na zmanjšanje obsega komplikacij, ki so posledica infekcij, ter skrajša čas hospitalizacije in stopnjo umrljivosti (11). Potrebno je sicer poudariti, da so bile študije izvedene na manjših populacijah, pri različnih bolezenskih stanjih in pri različnih količinah/načinih vnosa Gln, zato so potrebne nadaljnje raziskave, ki bodo dodatno potrdile pozitivne učinke Gln in hkrati opredelile pogoje vnosa.

2.2 Arginin

Vloga arginina (Arg, R) v imunskem sistemu je dokaj dobro raziskana, saj številne bakterije in rakave celice s pridom izkoriščajo njegovo posredno imunosupresivno vlogo. Arginin je substrat za dva encima, in sicer arginazo 1 in NO sintazo (NOS), ki generira dušikov oksid (NO). Študije so pokazale povečano prisotnost obeh encimov tako v mieloid-supresorskih celicah kot tudi v številnih tumorskih celicah ter nekaterih bakterijah (npr. *Helicobacter pylori*). Povišana aktivnost encimov v obeh primerih vodi v zaviranje imunskega odziva preko zmanjševanja koncentracije Arg v mikrookolju. V primeru bakterij gre za obrambni mehanizem, s katerim preprečujejo nastanek NO v celicah ubijalkah in makrofagih ter tako zavrejo njihovo baktericidno delovanje. V primeru tumorskih celic pa gre predvsem za zaviranje delovanja limfocitov T. Odsotnost Arg in povišana koncentracija NO namreč vodita v zmanjšano proliferacijo limfocitov T, znižano izražanje T celičnega receptorja in IL-2, kar oslabi njihovo funkcionalnost (12–14). Klinične študije so pokazale, da pri osebah z okužbami, rakavimi obolenji, operacijami na GIT ali hudimi opeklinami dodatek Arg okrepi delovanje limfocitov T, poviša izločanje protiteles, pospeši celjenje ran, omeji pogostost infekcij in posledično skrajša čas hospitalizacije (14,15).

2.3 Triptofan

V zadnjem desetletju proučevanja katabolizma triptofana (Trp, W) so ugotovili, da ima izjemno pomembno vlogo v mehanizmih periferne tolerance imunskega sistema ter tako doprinese k preprečevanju avtoimunskih obolenj ter nekaterih drugih patoloških stanj, ki so posledica nenadzorovane aktivacije imunskega sistema. Ključna je razgradnja Trp preko encima indolamin-2,3-dioksigenaze (IDO). Slednji je inducibilni encim, ki se izraža predvsem v makrofagih in dendritičnih celicah, ki pomembno uravnavajo delovanje limfocitov T. Imunosupresija poteka preko dveh mehanizmov, in sicer:

(i) pomanjkanje Trp zaradi povečanega delovanja encima IDO vodi v znižano razpoložljivost Trp kot gradnika, zaradi česar pride do zastoja limfocitov T v celičnem ciklu in posledično do njihove zmanjšane proliferacije (16);

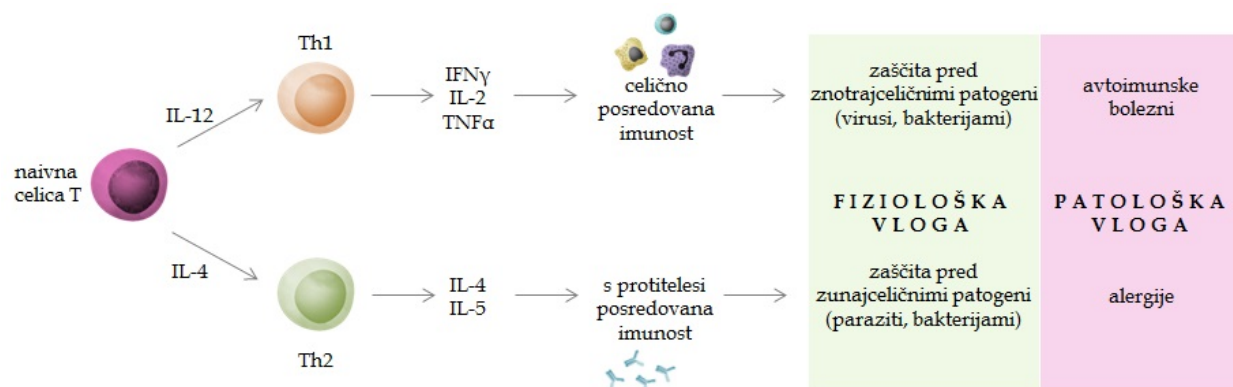
(ii) presnovki, ki nastajajo tekom razgradnje Trp z IDO (t.i. kinurenini), hkrati delujejo kot induktorji programirane celične smrti nekaterih imunskih celic (17,18).

Potrebno je poudariti, da mehanizmi delovanja IDO in s tem vpliv Trp na imunski sistem še niso popolnoma razjasnjeni, na kar kažejo nasprotujoči si rezultati študij. Tako povišana aktivnost IDO in znižano koncentracijo Trp enkrat povezujejo s povišanim oksidativnim stresom, drugi pa s protivnetnimi in antioksidativnimi učinki (19–21).

Študije na bolnikih z nekaterimi oblikami raka so pokazale, da ima izražanje IDO zelo pomembno vlogo pri napredovanju in prognozi malignih obolenj. Pri bolnikih s povišanim delovanjem IDO so opazili znižano infiltracijo imunskih celic v tumor in povišano število regulatornih limfocitov T ter posledično zmanjšano protitumorno delovanje imunskega sistema. Pri tem je potrebno omeniti, da nivoja IDO ne uravnava koncentracija Trp, temveč predvsem interferon γ (IFN γ), ki inducira povišano izražanje tega encima (22,23).

2.4 Aminokisline z razvežano verigo (branched chain amino acids, BCAA): valin, levcin, izolevcin

V to skupino spadajo tri strukturno podobne esencialne aminokisline: levcin (Leu, L), izolevcin (Ile, I) in valin (Val, V), ki si tudi delijo skupne katabolne encime. Med njimi naj bi na imunski sistem vplival predvsem levcin, za katerega se je nedavno izkazalo, da deluje kot aktivator mTOR kinaze. Omenjena kinaza uravnava celično rast na podlagi prisotnosti hranil in rastnih hormonov. Aktivacija mTOR vodi v povečano sintezo proteinov in posledično proliferacijo celic. Na *in vitro* modelih so pokazali, da odsotnost levcina vodi v zastoj delovanja in rasti limfocitov T. Vloga BCAA v imunskem sistemu ni zelo dobro raziskana. Raziskava na atletih, ki so zaužili BCAA, je pokazala povišano izločanje interleukina (IL)-2 in IFN γ ter zmanjšano izločanje IL-4, kar nakazuje na premik v odziv Th1 (za lažje razumevanje glej Sliko 1). Prisotnost BCAA naj bi tako ojačila sposobnost imunskega odziva na okužbe (24–26). Ali so ti učinki BCAA posredni ali neposredni ostaja nejasno. Na tem mestu je morda potrebno izpostaviti tudi neželene učinke BCAA. Novejše raziskave so pokazale, da BCAA v mikrogliji (antigen predstavitvene celice v centralnem živčnem sistemu) povzročijo povišano proizvodnjo IL-10 in ojačijo njene fagocitne sposobnosti, a hkrati vodijo tudi v povišan nastanek radikalov in znižano nevroprotektivno delovanje (27). V bodoče bo vsekakor potrebno opraviti dodatne študije, ki bi sistematično proučile vlogo BCAA in njihove učinke na imunski sistem.



Slika 1: Poenostavljen prikaz delovanja celic T pomagalk (Th).

3 VITAMINI: DOBRI ZNANCI IMUNSKEGA SISTEMA

Vitamini so organske spojine, ki jih telo ne more sintetizirati v zadostni količini in jih moramo zato vnesti s prehrano. Vitamini in njihovi metaboliti so ključni za normalen razvoj ploda, v odrasli dobi pa preko delovanja kot hormoni in antioksidanti omogočajo, da številni fiziološki procesi potekajo nemoteno. Močno so vpeti v delovanje tako naravnega kot tudi

pridobljenega imunskega odziva. Nekateri izmed njih delujejo bolj nespecifično (npr. vitamin C), medtem ko drugi oblikujejo imunski odgovor preko zelo specifičnih mehanizmov (vitamina A in D). V naslednjih podpoglavjih je na kratko povzeta vloga posameznih vitaminov z vidika njihovega vpliva na imunski sistem.

3.1 Vitamini B (B₆, B₁₂, folna kislina)

Vitamini B₆, B₁₂ in folna kislina so esencialni v biosintezi nukleinskih kislin in proteinov, zato ni presenetljivo, da imajo pomembno vlogo pri delovanju imunskega sistema. Študije na ljudeh so pokazale, da pomanjkanje omenjenih vitaminov vodi v moteno zorenje in rast limfocitov, znižano aktivnost celic ubijalk, močno znižanje limfocitov T CD8⁺ ter zmanjšano proizvodnjo protiteles in nekaterih vnetnih citokinov. Opazili so tudi močan premik proti odzivu Th2 in zaviranje odziva Th1 (28). Vse naštetе posledice so še zlasti problematične pri starejši populaciji, ki naj bi bila prav zaradi tega bolj dovzetna za razne okužbe. Omenjeni učinki so reverzibilni, če se pomanjkanje dotičnega vitamina nadomesti. Rezultati pa kažejo tudi, da so za izboljšanje imunskega odziva najverjetneje potrebne višje koncentracije, kot so trenutno priporočene vrednosti dnevnega vnosa (29,30).

3.2 Vitamin C

Vitamin C je zelo učinkovit antioksidant, ki ščiti celice pred neželenimi učinki reaktivnih kisikovih zvrsti (ROS). Visoke koncentracije vitamina C najdemo v levkocitih, kjer se tekom okužb tudi zelo hitro porablja. Vitamin C dokazano stimulira delovanje levkocitov, predvsem ojači kemotakso nevtrofilcev in migracijo monocitov ter poveča izločanje nekaterih citokinov. Izkazalo se je, da vnos vitamina C (>1g/dan) ne zniža stopnje pojavnosti prehladov, vendar zmanjša izražanje simptomov in trajanje bolezenskega stanja (28,31,32).

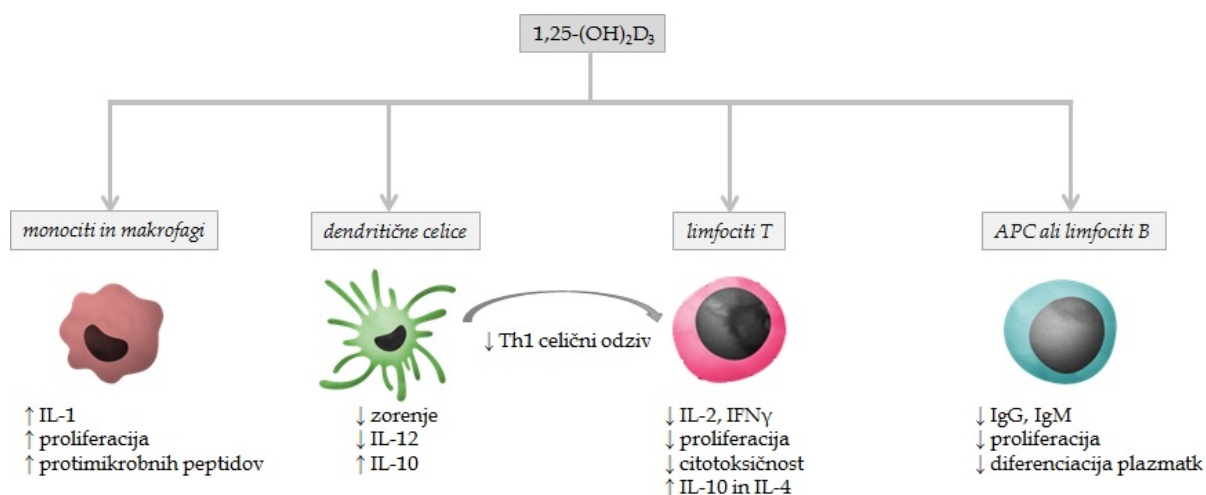
3.3 Vitamin A

Vloga vitamina A je posredovana predvsem preko njegovega aktivnega metabolita – retinojske kisline, ki sodeluje v številnih signalnih poteh. V imunskem sistemu ima retinojska kislina pomembno vlogo tako v celičnem odzivu kot v odzivu posredovanem s protitelesi. Ti učinki so zelo dobro raziskani predvsem v GIT. Retinojska kislina, ki jo izločajo dendritične celice črevesja, v efektorskih limfocitih B in T inducira povišano izražanje določenih integrinov in kemokinskih receptorjev, zaradi česar le-ti nato migrirajo na mesto vnetja. Prav tako spodbudi zorenje dendritičnih celic in ojači njihove antigen-predstavitvene lastnosti ter poviša diferenciacijo celic Th2. V GIT mišk in podgan so tako pokazali, da odsotnost vitamina A vodi v znižano zaščito pred okužbami in toksini, ki so produkt bakterij v ustih. Pomanjkanje vitamina A povezujejo s povišano pojavnostjo vnetij in z večjo dovzetnostjo za infekcije s črevesnimi bakterijami (33–35).

Vloga vitamina A oziroma retinoidov je zelo pomembna že tekom embrionalnega razvoja imunskega sistema. Nedavna študija na miškah je pokazala, da pomanjkanje vitamina A tekom brejosti vodi v zmanjšan razvoj sekundarnih limfoidnih organov pri plodu, zaradi česar imajo potomci spremenjen imunski odziv tudi v odrasli dobi (36). Terapija z retinoidi se je v nekaterih živalskih modelih z induciranimi avtoimunskimi obolenji izkazala kot uspešen pristop zdravljenja. Študije so pokazale, da dodatek vitamina A uspešno zavre simptome psoriaze in kontaktnega dermatitisa (37,38).

3.4 Vitamin D₃

Odkritje receptorjev za vitamin D v monocitih, makrofagih in tkivu priželjca je nakazalo na specifične vloge vitamina D₃ v imunskem sistemu in tako je sedaj že več kot 20 let znano, da vitamin D₃ oziroma njegov aktivni metabolit 1,25-dihidroksikolekalciferol (1,25-(OH)₂D₃) deluje kot močan imunoregulator. Celično specifično delovanje vitamina D₃ je možno tudi zaradi tega, ker njegov metabolizem poteka tudi v imunskih celicah, kar omogoči lokalni nadzor nad količino 1,25-(OH)₂D₃ in tako ojači njegov ciljno delovanje. 1,25-(OH)₂D₃ na celice pridobljenega imunskega odziva deluje močno zaviralno, saj zavira proliferacijo limfocitov T, zavira izločanje IL-2 in zmanjša citotoksičnost limfocitov T CD8+, hkrati pa okrepi imunosupresivno delovanje limfocitov T. Celokupno gledano tako 1,25-(OH)₂D₃ v limfocitih T ojači imunski odziv Th2, medtem ko zavre delovanje odziva Th1 (Slika 2).



Slika 2: Shematski prikaz učinkov 1,25-(OH)₂D₃ na celice imunskega sistema. APC, antigen prezentirajoče celice.

V dendritičnih celicah 1,25-(OH)₂D₃ zavira diferenciacijo, zorenje in imunostimulatorno kapaciteto. Zaradi omenjenih učinkov na limfocite T in dendritične celice, 1,25-(OH)₂D₃ posredno povzroči tudi znižano proliferacijo limfocitov B, diferenciacijo plazmatk in upad v izločanju protiteles IgG. Vsi učinki pa niso le zaviralni, saj 1,25-(OH)₂D₃ spodbuja diferenciacijo monocitov do makrofagov in v teh celicah zviša izločanje vnetnega IL-1 in protimikrobnih peptidov. Celokupno gledano je torej vitamin D₃ pomemben v zagotavljanju homeostaze imunskega sistema, predvsem v smislu zaviranja patološkega celično-posredovanega imunskega odziva (39,40). Skladno s tem so epidemiološke študije pokazale, da pomanjkanje vitamina D₃ korelira s povišano pojavnostjo nekaterih avtoimunskih obolenj, vključujoč multiplo sklerozo, revmatoidni artritis, sladkorno bolezen, sistemski lupus eritematozus in kronične vnetne črevesne bolezni (41,42). Po nekaterih podatkih naj bi zadosten dnevni vnos vitamina D₃ pri otrocih znižal možnost za nastanek sladkorne bolezni tipa 1 za 80%, medtem ko se pri tistih, ki imajo pomanjkanje omenjenega vitamina, možnost za nastanek poviša za dvakrat. Koncentracije vitamina D₃ so po nekaterih podatkih pomembne že v nosečnosti. In sicer je pri otrocih, katerih matere so imele prenizek dnevni vnos vitamina D₃, možnost pojava sladkorne bolezni tipa 1 značilno zvišana (43,44). Pri osebah z že razvito avtoimunsko boleznijo so pokazali, da vnos vitamina D₃ zavira napredovanje bolezni. Zaradi spodbujanja nespecifičnega dela imunskega odziva so učinki zadostnega vnosa vitamina D₃ vidni tudi pri okužbah. Izkazalo se je, da je pojavnost okužb s *H. pylori*, pojavnost gripe in

pojavnost okužb z nekaterimi respiratornimi virusi obratno sorazmerna s količino vnesenega vitamina D₃. Vlogo vitamina D₃ proučujejo tudi pri nekaterih vrstah rakavih obolenj (npr. hematološka maligna obolenja), kjer podatki kažejo na njegove protitumorne lastnosti (45–47).

3.5 Vitamin E

Vitamin E je eden izmed najučinkovitejših antioksidantov v človeškem organizmu, med njegove najpomembnejše funkcije pa sodi varovanje bioloških membran pred škodljivimi učinki radikalov. Študije kažejo, da vitamin E deluje tudi na številne komponente imunskega sistema. V monocitih vitamin E zniža izločanje ROS in vnetnih molekul (npr. IL-1, IL-6, TNF α , IL-8), v makrofagih pa zavira delovanje ciklooksigenaze-2 (COX-2) in posledično zniža koncentracijo prostaglandina E₂, ki omejuje proliferacijo limfocitov. Vitamin E povzroča povišano izločanje IL-2 in zavira izločanje IL-4, kar naj bi vodilo k premiku v odziv Th1 (48). Ti učinki so pomembni predvsem pri starejši populaciji, pri kateri pride do upada zgoraj omenjenih parametrov in posledično do znižanega delovanja imunskega sistema. Povišan vnos vitamina E v tej populaciji zniža pogostost okužb, poviša možnost zapoznelih reakcij preobčutljivosti in zviša titer protiteles pri cepljenju proti hepatitisu B in tetanusu (49,50).

4 MINERALI V SLEDOVIH: NEODKRITE VLOGE

Podatki o vplivu mineralov v sledovih na imunski sistem so relativno skopi. Večina študij je bila opravljenih pred več kot dvema desetletjema in pogosto so bile raziskave slabo zasnovane, kar onemogoča verodostojne zaključke. Natančni mehanizmi delovanja mineralov so nerazjasnjeni in zato težko opredelimo, ali so učinki mineralov vidni zaradi neposrednega delovanja na komponente imunskega sistema ali pa so spremembe le posledica delovanja na druge tarče. V nadaljevanju sledi kratek pregled treh mineralov v sledovih, za katere je na področju imunskega sistema še največ verodostojnih dognanj. Minerali se kot prehranska dopolnila dodajajo ali pa v telesu obstajajo v različnih oblikah. V oklepajih so predstavljene oblike, v katerih se minerali najpogosteje dodajajo kot prehranska dopolnila.

4.1. Selen (natrijev selenit, selenometionin, selenocistein)

Selen (Se) deluje kot kofaktor številnih proteinov (t.i. selenoproteinov), ki delujejo predvsem antioksidativno (npr. glutation peroksidaza). Selen je tako primarno pomemben za omejevanje oksidativnega stresa, ki nastane kot posledica vnetja in delovanja makrofagov. Pomanjkanje Se vodi v omejeno kemotakso nevtrofilcev, znižanje fagocitne sposobnosti makrofagov, zvišano število limfocitov T CD4⁺ in upada limfocitov T CD8⁺. Pri osebah s pomanjkanjem Se se je izkazalo, da lahko neškodljivi virusi gripe lažje mutirajo in postanejo bolj virulentni. Na modelih celičnih linij so celo pokazali, da dodatek Se zniža replikativne sposobnosti virusa HIV-1 (51–53).

Selen naj bi imel pomembno vlogo tudi pri omejevanju napredovanja avtoimunskih obolenj. Dobro proučena je vloga selen v Hashimotovem tiroiditisu, pri katerem se je pokazalo, da imajo bolniki z zadostnim vnosom tega minerala bistveno nižji titer reaktivnih avto-protiteles in nižjo infiltracijo limfocitov v ščitnicah (54).

4.2. Cink (cinkov glukonat, cinkov acetat, cinkov pikolinat)

Cink (Zn) v imunskem sistemu deluje na več nivojih. Skupaj z bakrom deluje kot kofaktor superoksid dizmutaze, zaradi česar je pomemben pri omejevanju oksidativnega stresa in odstranjevanju ROS. Preko teh mehanizmov naj bi tudi zaviral izločanje nekaterih vnetnih citokinov (TNF α , IL-6, IL-1 β). Cink vpliva tudi na delovanje hormona timulina, ki se veže na receptorje v limfocitih T ter tako uravnava izločanje citokinov, poveča proliferacijo in delovanje limfocitov T. Blago pomanjkanje cinka vodi v znižano aktivnost timulina in posredno v zaviranje odziva Th1 (znižan IL-2, omejeno delovanje celic ubijalk, znižano kemotakso imunskih celic in omejene fagocitne sposobnosti makrofagov) in zato povišano dovzetnost za okužbe predvsem pri otrocih in starostnikih. Nekateri klinični študije so pokazale, da dodatek cinka zniža pogostost in trajanje okužb spodnjih dihalnih poti, urinarnega trakta in diarej (28,55,56). Izpostaviti je potrebno, da tako zelo nizke kot tudi zelo visoke koncentracije cinka vodijo v podobne imunosupresivne učinke, zato je ključnega pomena vnos ustrezne količine cinka.

4.3 Železo (železov sulfat, železov fumarat, železov glukonat, železov dekstran)

Železo (Fe) je nepogrešljiv element za delovanje skoraj vseh organizmov. Pomanjkanje železa omeji delovanje imunskih celic, saj deluje kot kofaktor za številne encime. Odsotnost železa zmanjša oksidativni izbruh v makrofagih in nevtrofilcih ter tako omeji njihove protimikrobne učinke. Nasprotno pa podatki kažejo, da sta pogostost in obseg okužb pri osebah, ki imajo previsok nivo železa, močno povišana. To velja predvsem za organizme, ki del svojega življenjskega cikla preživijo znotraj celic organizma (npr. plazmodij, virus HIV). Na miškah, okuženih z bakterijo *Mycobacterium tuberculosis*, so pokazali, da je v skupini z dodatkom železa prišlo do kar desetkratnega povišanja števila bakterijskih kolonij v primerjavi s tistimi, ki niso prejemale dodatnega Fe. Bakterije sicer za svoje preživetje nujno potrebujejo železo. Znano je, da pride v nekaj urah po infekciji do drastičnega upada zunajcelične koncentracije železa, kar je posledica omejenega izločanja tega minerala iz makrofagov in povišanega izločanja kelatorjev železa iz nevtrofilcev. Takšen mehanizem naj bi omejil dostopnost železa za bakterije in omejil njihovo razrast. Študije tako kažejo, da je ključnega pomena, da je nivo železa v telesu ustrezno uravnan (28,57–59).

5 SKLEP

Vloga hranil igra nesporno pomembno vlogo v oblikovanju imunskega sistema vse od razvoja ploda pa do pozne starosti. Čeprav so vplivi nekaterih hranil dobro opisani in mehanizmi nakazani, pa ostaja na tem področju še veliko neodgovorjenih vprašanj. Razlogi za to ležijo tudi v tem, da je imunski sistem izjemno kompleksen ustroj, ki se pri posameznikih oblikuje izrazito individualno glede na genetske predispozicije in okoljske dejavnike. Hkrati pa je zelo težko potegniti mejo med osnovno vlogo hranil (npr. kot gradnikov proteinov, kot vir energije itd.) ter med njihovimi neposrednimi učinki na tarče v imunskih celicah. Na tem področju je zato potrebno opraviti še veliko dobro zasnovanih raziskav, ki bodo podale odgovore na številna še odprta vprašanja in tako razjasnila vlogo ter pripomogla k smotrni uporabi posameznih hranil oziroma njihovih kombinacij za izboljšanje delovanja imunskega odziva.

6 LITERATURA

1. V V, J V. Concept of Immuno-Nutrition. *J Nutr Food Sci*. 2016 May 10;6(3):1–3.
2. Newsholme EA, Calder PC. The proposed role of glutamine in some cells of the immune system and speculative consequences for the whole animal. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 1997 Aug;13(7–8):728–30.
3. Wu GY, Field CJ, Marliss EB. Glutamine and glucose metabolism in rat splenocytes and mesenteric lymph node lymphocytes. *Am J Physiol*. 1991 Jan;260(1 Pt 1):E141–147.
4. Newsholme P, Procopio J, Lima MMR, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate—their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct*. 2003 Mar 1;21(1):1–9.
5. Carr EL, Kelman A, Wu GS, Gopaul R, Senkevitch E, Aghvanyan A, et al. Glutamine Uptake and Metabolism Are Coordinately Regulated by ERK/MAPK during T Lymphocyte Activation. *J Immunol*. 2010 Jul 15;185(2):1037–44.
6. Wu G, Fang Y-Z, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*. 2004 Mar;134(3):489–92.
7. Andrews FJ, Griffiths RD. Glutamine: essential for immune nutrition in the critically ill. *Br J Nutr*. 2002 Jan;87(S1):S3–8.
8. Pithon-Curi TC, Schumacher RI, Freitas JJS, Lagranha C, Newsholme P, Palanch AC, et al. Glutamine delays spontaneous apoptosis in neutrophils. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2003 Jun;284(6):C1355–1361.
9. Hayashi Y, Sawa Y, Fukuyama N, Nakazawa H, Matsuda H. Preoperative Glutamine Administration Induces Heat-Shock Protein 70 Expression and Attenuates Cardiopulmonary Bypass–Induced Inflammatory Response by Regulating Nitric Oxide Synthase Activity. *Circulation*. 2002 Nov 12;106(20):2601–7.
10. Ewaschuk JB, Murdoch GK, Johnson IR, Madsen KL, Field CJ. Glutamine supplementation improves intestinal barrier function in a weaned piglet model of *Escherichia coli* infection. *Br J Nutr*. 2011 Sep;106(6):870–7.
11. D'Souza R, Powell-Tuck J. Glutamine supplements in the critically ill. *J R Soc Med*. 2004 Sep;97(9):425–7.
12. Gobert AP, McGee DJ, Akhtar M, Mendz GL, Newton JC, Cheng Y, et al. *Helicobacter pylori* arginase inhibits nitric oxide production by eukaryotic cells: a strategy for bacterial survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Nov 20;98(24):13844–9.
13. Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nat Rev Immunol*. 2005 Aug;5(8):641–54.
14. Popovic PJ, Zeh HJ, Ochoa JB. Arginine and Immunity. *J Nutr*. 2007 Jun 1;137(6):1681S–1686S.
15. Li P, Yin Y-L, Li D, Kim SW, Wu G. Amino acids and immune function. *Br J Nutr*. 2007 Aug;98(2):237–52.
16. Munn DH, Shafizadeh E, Attwood JT, Bondarev I, Pashine A, Mellor AL. Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism. *J Exp Med*. 1999 May 3;189(9):1363–72.
17. Song H, Park H, Kim Y-S, Kim KD, Lee H-K, Cho D-H, et al. I-Kynurenine-induced apoptosis in human NK cells is mediated by reactive oxygen species. *Int Immunopharmacol*. 2011 Aug;11(8):932–8.
18. T cell apoptosis by tryptophan catabolism. *Publ Online* 01 Oct 2002 Doi101038sjcdd4401073 [Internet]. 2002 Oct 1 [cited 2017 May 9];9(10). Available from: <http://www.nature.com/cdd/journal/v9/n10/abs/4401073a.html>
19. Forrest CM, Mackay GM, Stoy N, Egerton M, Christofides J, Stone TW, et al. Tryptophan loading induces oxidative stress. *Free Radic Res*. 2004 Nov;38(11):1167–71.
20. Christen S, Peterhans E, Stocker R. Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: possible implication for inflammatory diseases. *Proc Natl Acad Sci*. 1990 Apr 1;87(7):2506–10.
21. Kim CJ, Kovacs-Nolan JA, Yang C, Archbold T, Fan MZ, Mine Y. L-Tryptophan exhibits therapeutic function in a porcine model of dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis. *J Nutr Biochem*. 2010 Jun;21(6):468–75.
22. Godin-Ethier J, Hanafi L-A, Piccirillo CA, Lapointe R. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression in Human Cancers: Clinical and Immunologic Perspectives. *Clin Cancer Res*. 2011 Nov 15;17(22):6985–91.
23. Grohmann U, Fallarino F, Puccetti P. Tolerance, DCs and tryptophan: much ado about IDO. *Trends Immunol*. 2003 May;24(5):242–8.
24. Bassit RA, Sawada LA, Bacurau RFP, Navarro F, Martins E, Santos RVT, et al. Branched-chain amino acid supplementation and the immune response of long-distance athletes. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2002 May;18(5):376–9.
25. Calder PC. Branched-Chain Amino Acids and Immunity. *J Nutr*. 2006 Jan 1;136(1):288S–293S.
26. Junya Yoneda AA and KT. Regulatory Roles of Amino Acids in Immune Response [Internet]. <http://www.eurekaselect.com>. [cited 2017 May 9]. Available from: <http://www.eurekaselect.com/85522/article>

27. De Simone R, Vissicchio F, Mingarelli C, De Nuccio C, Visentin S, Ajmone-Cat MA, et al. Branched-chain amino acids influence the immune properties of microglial cells and their responsiveness to pro-inflammatory signals. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis.* 2013 May;1832(5):650–9.
28. Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. *Ann Nutr Metab.* 2007;51(4):301–23.
29. Kwak H-K, Hansen CM, Leklem JE, Hardin K, Shultz TD. Improved vitamin B-6 status is positively related to lymphocyte proliferation in young women consuming a controlled diet. *J Nutr.* 2002 Nov;132(11):3308–13.
30. Cheng C-H, Chang S-J, Lee B-J, Lin K-L, Huang Y-C. Vitamin B6 supplementation increases immune responses in critically ill patients. *Eur J Clin Nutr.* 2006 Oct;60(10):1207–13.
31. Wintergerst ES, Maggini S, Hornig DH. Immune-Enhancing Role of Vitamin C and Zinc and Effect on Clinical Conditions. *Ann Nutr Metab.* 2006;50(2):85–94.
32. Hemilä H, Chalker E. Vitamin C for preventing and treating the common cold. In: *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2013 [cited 2017 May 9]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD000980.pub4/abstract>
33. Saurer L, McCullough KC, Summerfield A. In vitro induction of mucosa-type dendritic cells by all-trans retinoic acid. *J Immunol Baltim Md 1950.* 2007 Sep 15;179(6):3504–14.
34. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol.* 2008 Sep;8(9):685–98.
35. Pino-Lagos K, Benson MJ, Noelle RJ. Retinoic Acid in the Immune System. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Nov 1;1143(1):170–87.
36. van de Pavert SA, Ferreira M, Domingues RG, Ribeiro H, Molenaar R, Moreira-Santos L, et al. Maternal retinoids control type 3 innate lymphoid cells and set the offspring immunity. *Nature.* 2014 Apr 3;508(7494):123–7.
37. Van De Kerkhof PCM. Update on retinoid therapy of psoriasis in: an update on the use of retinoids in dermatology. *Dermatol Ther.* 2006 Sep 1;19(5):252–63.
38. Ruzicka T, Larsen FG, Galewicz D, Horváth A, Coenraads PJ, Thestrup-Pedersen K, et al. Oral alitretinoin (9-cis-retinoic acid) therapy for chronic hand dermatitis in patients refractory to standard therapy: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *Arch Dermatol.* 2004 Dec;140(12):1453–9.
39. Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med Berl Ger.* 2010 May;88(5):441–50.
40. White JH. Vitamin D metabolism and signaling in the immune system. *Rev Endocr Metab Disord.* 2012 Mar;13(1):21–9.
41. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Rev Rheumatol.* 2008 Aug;4(8):404–12.
42. Yang C-Y, Leung PSC, Adamopoulos IE, Gershwin ME. The Implication of Vitamin D and Autoimmunity: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2013 Oct 1;45(2):217–26.
43. Burris HH, Camargo CA. Vitamin D and Gestational Diabetes Mellitus. *Curr Diab Rep.* 2014 Jan;14(1):451.
44. Palomer X, González-Clemente JM, Blanco-Vaca F, Mauricio D. Role of vitamin D in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab.* 2008 Mar 1;10(3):185–97.
45. Aranow C. Vitamin D and the immune system. *J Investig Med Off Publ Am Fed Clin Res.* 2011 Aug;59(6):881–6.
46. Schwalfenberg GK. A review of the critical role of vitamin D in the functioning of the immune system and the clinical implications of vitamin D deficiency. *Mol Nutr Food Res.* 2011 Jan 1;55(1):96–108.
47. Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer.* 2014 May;14(5):342–57.
48. Reiter E, Jiang Q, Christen S. Anti-inflammatory properties of α - and γ -tocopherol. *Mol Aspects Med.* 2007;28(5–6):668–91.
49. Meydani SN, Han SN, Wu D. Vitamin E and immune response in the aged: molecular mechanisms and clinical implications. *Immunol Rev.* 2005 Jun;205:269–84.
50. Han SN, Meydani SN. Impact of vitamin E on immune function and its clinical implications. *Expert Rev Clin Immunol.* 2006 Jul;2(4):561–7.
51. Huang Z, Rose AH, Hoffmann PR. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2012 Apr 1;16(7):705–43.
52. Hoffmann PR, Berry MJ. The influence of selenium on immune responses. *Mol Nutr Food Res.* 2008 Nov;52(11):1273–80.
53. Huang Z, Rose AH, Hoffmann PR. The Role of Selenium in Inflammation and Immunity: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2012 Apr 1;16(7):705–43.

54. Toulis KA, Anastasilakis AD, Tzellos TG, Goulis DG, Kouvelas D. Selenium Supplementation in the Treatment of Hashimoto's Thyroiditis: A Systematic Review and a Meta-analysis. *Thyroid*. 2010 Oct 1;20(10):1163–73.
55. Prasad AS. Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. *Mol Med Camb Mass*. 2008 Jun;14(5–6):353–7.
56. Prasad AS. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Exp Gerontol*. 2008 May;43(5):370–7.
57. Schaible UE, Collins HL, Priem F, Kaufmann SHE. Correction of the iron overload defect in beta-2-microglobulin knockout mice by lactoferrin abolishes their increased susceptibility to tuberculosis. *J Exp Med*. 2002 Dec 2;196(11):1507–13.
58. Brock JH, Mulero V. Cellular and molecular aspects of iron and immune function. *Proc Nutr Soc*. 2000 Nov;59(4):537–40.
59. Khan FA, Fisher MA, Khakoo RA. Association of hemochromatosis with infectious diseases: expanding spectrum. *Int J Infect Dis*. 2007 Nov;11(6):482–7.

Sodobna fitoterapija in imunski sistem

doc. dr. Nina Kočevar Glavač, mag. farm.

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

Povzetek

Uporaba zdravilnih rastlin postaja izjemno pomemben in tudi strokovno utemeljen del našega zdravstva. Sodobno življenje je za ohranjanje psihičnega in fizičnega zdravja zagotovo velik izziv, kar se odraža v naraščanju uporabe izdelkov naravnega izvora, s katerimi povečamo odpornost telesa. V okviru sodobne fitoterapije v te namene uporabljamo adaptogene in imunostimulante. V prispevku opisujemo ginseng, elevterokok in rožni koren, ki sodijo med adaptogene, ter ameriški slamnik in zdravilne gobe, ki jih uporabljamo zaradi njihovega imunostimulativnega delovanja.

Vsebina

1 UVOD

2 ADAPTOGENI

2.1 Ginseng

2.1.1 Učinkovine

2.1.2 Uporaba in odmerjanje

2.1.3 Neželeni učinki in opozorila

2.1.4 Farmakološke in klinične raziskave

2.2 Elevterokok

2.2.1 Učinkovine

2.2.2 Uporaba in odmerjanje

2.2.3 Neželeni učinki in opozorila

2.2.4 Farmakološke in klinične raziskave

2.3 Rožni koren

2.3.1 Učinkovine

2.3.2 Uporaba in odmerjanje

2.3.3 Neželeni učinki in opozorila

2.3.4 Farmakološke in klinične raziskave

3 IMUNOSTIMULANTI

3.1 Ameriški slamnik

3.1.1 Učinkovine

3.1.2 Uporaba in odmerjanje

3.1.3 Neželeni učinki in opozorila

3.1.4 Farmakološke in klinične raziskave

3.2 Zdravilne gobe

4 SKLEP

5 LITERATURA

1 UVOD

Uporaba zdravilnih rastlin – tako v obliki domačih pripravkov kot zdravil in prehranskih dopolnil – postaja izjemno pomemben del našega zdravstva. Uveljavljena je kot prva izbira za ohranjanje dobre zdravstvene kondicije, vidno mesto pa dobiva tudi v preprečevanju in zdravljenju akutnih in kroničnih bolezni, ne le med splošnim prebivalstvom, ampak tudi v farmacevtsko-medicinski stroki. Ocenjujejo, da po izdelkih rastlinskega izvora redno posega 80 odstotkov prebivalstva v nerazvitih deželah, kjer je fitoterapija prva in pogosto tudi edina možnost zdravljenja, ter kar 50 do 70 odstotkov prebivalstva v sodobnem svetu (1).

Kljub velikemu napredku znanja o zdravilnih rastlinah in njihovih učinkovinah je najpogostejši razlog za uporabo izdelkov rastlinskega izvora še vedno njihov naravni izvor in s tem povezano prepričanje, da so z vidika spodbujanja zdravja najboljša izbira za telo (2).

Zdrav organizem je neposredno povezan z učinkovitim delovanjem imunskega sistema. Danes vemo, da slednji ni le prva obrambna linija ob vdoru patogenov, kot so virusi ali bakterije, ampak se vpleta tudi v delovanje živčnega in endokrinega sistema ter je bistvenega pomena pri odzivu na psihični in fizični stres. Kronično obremenjen imunski sistem izčrpava organizem in ga povezujemo z vrsto bolezni, na primer astmo, revmatoidnim artritisom, Crohnovo boleznijo, celiakijo, gastritisom, aterosklerozo, debelostjo, sladkorno boleznijo in nekaterimi vrstami raka (3).

Ob upoštevanju zgoraj omenjenih dejstev ni presenetljivo, da ob sodobnem ritmu življenja, ki je za ohranjanje psihičnega in fizičnega zdravja zagotovo velik izziv, izrazito narašča uporaba izdelkov rastlinskega izvora, s katerimi želimo povečati odpornost telesa proti boleznim. V okviru sodobne fitoterapije razvrščamo zdravilne rastline s takšnim delovanjem v dve skupini, in sicer na adaptogene in imunostimulante (4, 5). Adaptogeni krepijo obrambni odziv organizma na stresne dejavnike, imunostimulanti pa spodbujajo delovanje imunskega sistema, s čimer preprečujejo ali zdravijo bolezni drugih organskih sistemov.

2 ADAPTOGENI

V prvotni definiciji iz leta 1969 so adaptogene opisali kot snovi z nespecifičnim delovanjem, ki povečajo odpornost organizma na različne fizične, kemijske in biološke stresne dejavnike, normalizirajo porušene fiziološke funkcije organov, hkrati pa niso toksični (6). Na podlagi izsledkov intenzivnih raziskav, ki so sledile v naslednjih desetletjih, so to definicijo leta 1999 nadgradili z razlago, da gre za metabolne regulatorje (navadno naravnega izvora), ki povečajo sposobnost organizma za prilagajanje okoljskim stresnim dejavnikom in preprečijo nastanek poškodb, ki jih ti dejavniki povzročijo (7). Adaptogene danes priznavajo tudi regulatorni organi (8).

Adaptogenov ne smemo zamenjevati s (psiho)stimulanti. Ključno razliko med njimi razlagajo z izražanjem njihovih učinkov v odvisnosti od časa: stopnja kognitivne ali fizične aktivnosti pod vplivom adaptogena naraste in nato počasi upade do končne vrednosti, ki je malo nad začetno, medtem ko stimulant povzroči porast (navadno celo nekoliko večji kot adaptogen), ki mu sledi izrazit padec aktivnosti – najprej do vrednosti, ki je bistveno pod začetno in povzroči izčrpanje organizma, stanje pa se na koncu ustali pri končni vrednosti, ki je malo pod začetno (7).

Mehanizmi delovanja adaptogenov na molekularni ravni so kompleksni in raznoliki ter medsebojno zelo prepleteni. Obsegajo učinke na sintezo nukleinskih kislin in proteinov, uravnavanje celičnih energetskih procesov, presnovo eikozanoidov, kateholaminov, kortikosteroidov in lipidno peroksidacijo, hkrati pa se vpletajo tudi v delovanje imunskega sistema (7).

Najpomembnejše in najbolj raziskane zdravilne rastline z adaptogenimi učinki so ginseng, eleuterokok in rožni koren, ki jih podrobneje opisujemo v nadaljevanju.

Pri nas so kot rastlinske sestavine prehranskih dopolnil dostopni tudi azijski vodni popnjak ali gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban), grahovec ali astragalus (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge), mačja trava ali mačji krempelj (*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.) in uspavalna vitanija (*Withania somnifera* (L.) Dunal). Tudi njihova najpomembnejša farmakološka lastnost je adaptogeno delovanje, vendar so veliko manj raziskane.

2.1 GINSENG

Znanstveno ime: *Panax ginseng* CA. Meyer (pravi ginseng)

Družina: Araliaceae (bršljanovke)

Rastlinska droga: Ginseng radix (korenina pravega ginsenga)

Ginseng izvira iz vzhodne Azije, kjer je že tisočletja ena od osrednjih zdravilnih rastlin ajurvedske in tradicionalne kitajske medicine. Njegova korenina ima v vzhodnih kulturah velik simboličen pomen, saj po obliki spominja na človeško telo.

Pri izdelavi droge dobimo rdeči ali beli ginseng (slednji velja za bolj kakovostnega) (4). Beli ginseng dobimo tako, da korenine izkopljemo po štirih do šestih letih rasti, jih olupimo, obelimo z žveplovim dioksidom in sušimo na soncu ali pri temperaturi 100 do 200 °C. Za drogo rdečega ginsenga korenine izpostavimo vodni pari (dve do tri ure pri 120 do 130 °C) in jih posušimo. Po sušenju imajo rožnat videz, so prosojne in rdečkasto obarvane.

2.1.1 Učinkovine

Najpomembnejše učinkovine v korenini ginsenga so (9):

- triterpenoidi: saponini ginsenosidi (zlasti ginsenosida Rg₁ in Rb₁: 0,8 do 6,1 %);
- eterično olje: β-elemen, eremofilen, poliacetileni, panaksidol, panaksinol in panaksitriol;
- fenolkarboksilne kisline: salicilna in vanilna kislina;
- peptidoglikani: panaksani.

2.1.2 Uporaba in odmerjanje

Ginseng tradicionalno cenijo kot panacejo, zdravilo za vse bolezni. Uporabljajo ga na primer za izboljšanje teka, proti bruhanju in slabosti, pri pikih žuželk in celo za oživljanje. Kot adaptogen je uveljavljen za kratkotrajno uporabo pri sicer zdravih ljudeh (za povečanje telesne zmogljivosti, delovne storilnosti in koncentracije ter odpornosti na stres) ter za dolgotrajno uporabo pri oslavljenem in izčrpanem organizmu, zlasti pri starejših (1, 4).

Odmerjanje v skladu z monografijo ginsenga Evropske agencije za zdravila navajamo v preglednici 1. Z vidika zakoreninjenosti tradicionalne uporabe (zlasti po svetu) je smiselno razlikovanje med kratkotrajno uporabo (zlasti pri zdravih mlajših ljudeh) in dolgotrajno

uporabo. Kratkotrajna uporaba je priporočljiva v odmerjanju 0,5 do 1,0 g korenine dnevno, navadno razdeljeno v dva odmerka, dolgotrajna uporaba pa 0,4 do največ 0,8 g korenine dnevno (1). Jemanje naj bi bilo omejeno na starost nad 18 let in tri mesece neprekinjene uporabe (10), nekoliko strožje pa je priporočilo omejitve na 15 do 20 dni z najmanj dvotedensko prekinitvijo pred ponovnim jemanjem (1).

Preglednica 1: Priporočeno odmerjanje po monografiji Evropske agencije za zdravila (za podrobnejše podatke glejte literaturni vir 10*).

Rastlinska droga		Dnevni odmerek
Beli ginseng	zdrobljena ali uprašena korenina	zdravilni čaj (dekoka): 1000 do 2000 mg/150 mL vode; 2- do 3-krat
	suhi ekstrakt	200 do 600 mg; 1- do 4-krat
	tekoči ekstrakt	500 do 2500 mg; 1- do 2-krat
Rdeči ginseng	uprašena korenina	1800 mg; 3-krat
	suhi ekstrakt	180 do 500 mg; 1- do 2-krat

*Monografija navaja različne vrste ekstraktov, odvisno od koncentracije etanola ter razmerja med rastlinsko drogo in etanolom.

2.1.3 Neželeni učinki in opozorila

Priporočena uporaba ginsenga navadno ni povezana z neželenimi učinki. Redko se pojavijo alergijske reakcije (urtikarija in srbenje), hipertenzija, nemir in nespečnost, gastrointestinalne težave (bolečine v želodcu, bruhanje, driska in zaprtje) ter evforija (4, 10). Sindrom zlorabe ginsenga se pojavi v enem do treh tednih jemanja dnevnih odmerkov približno 3 g, zanj pa so značilni jutranja driska, kožni izpuščaji, hipertenzija, nemir in nezavest (4). Previdnost je potrebna pri bolnikih s hipertenzijo in sladkorno boleznijo. Podatkov o interakcijah je zelo malo, možne so z varfarinom, fenelzinom, lorazepamom in triazolamom. Zaradi pomanjkljivega poznavanja varnosti odsvetujemo dolgoročno uporabo ter uporabo pri otrocih, nosečnicah in doječih materah (1, 4).

2.1.4 Farmakološke in klinične raziskave

Nosilci adaptogenega delovanja so ginsenosidi. Ginseng so proučili v številnih *in vitro* raziskavah in raziskavah na živalih. Dokazali so na primer hipoglikemično, hipolipidemično, antikoagulatивно, hepatoprotektivno, protivirusno in protitumorno delovanje (1). Hkrati pa so dobro dokumentirani tudi njegovi klinični učinki, in sicer adaptogeni vplivi na fizične in kognitivne zmogljivosti (11), hipoglikemično delovanje (12), imunomodulatorno delovanje in preventiva raka (1), izboljšanje simptomov klimakterija (13) ter ugodno delovanje pri erektilni disfunkciji (14).

2.2 ELEVTEROKOK

Znanstveno ime: *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. syn. *Acanthopanax senticosus* (Rupr. & Maxim.) Harms (elevterokok)

Družina: Araliaceae (bršljanovke)

Rastlinska droga: *Eleutherococci radix* (korenina elevterokoka)

Elevterokok so odkrili ruski raziskovalci v 60. letih prejšnjega stoletja, ko so iskali nadomestke ginsenga za potrebe astronautov – od tod izhaja njegovo drugo, zelo zakoreninjeno ime sibirski ginseng.

2.2.1 Učinkovine

Najpomembnejše učinkovine v korenini elevterokoka so (1, 9):

- eterično olje (0,8 %);
- fenilpropanoidi: elevterozid B (0,5 %) in koniferin;
- lignani: elevterozid D in E (0,2 %), sezamin (0,023 %) in siringarezinol;
- triterpenoidi: saponini (elevterozidi I do M in sentikozidi A do F);
- steroidi: saponini (elevterozid A: 0,1 %);
- fenolkarboksilne kisline: kavna in klorogenska kislina;
- kumarini: elevterozid B₁ in izofraksidin.

2.2.2 Uporaba in odmerjanje

Elevterokok tradicionalno uporabljajo za pospeševanje delovanja jeter in ledvic, krepitev kosti, zdravljenje koronarne srčne bolezni in angine pectoris ter lajšanje simptomov menopavze (15). Uporaba v okviru sodobne fitoterapije, tj. kot adaptogen, temelji na izkušnjah tradicionalne medicine.

Odmerjanje v skladu z monografijo elevterokoka Evropske agencije za zdravila navajamo v preglednici 2. Jemanje naj bi bilo omejeno na starost nad 12 let in dva meseca neprekinjene uporabe (16).

Preglednica 2: Priporočeno odmerjanje po monografiji Evropske agencije za zdravila (za podrobnejše podatke glejte literaturni vir 16*).

Rastlinska droga	Dnevni odmerek
Zdrobljena korenina	zdravilni čaj (poparek): 0,5 do 4 g/150 mL vode; 1- do 3-krat
Uprašena korenina	0,75 do 3 g; 1- do 3-krat
Tekoči ekstrakt	2 do 3 mL; 1- do 3-krat
Suhi vodni ekstrakt	90 do 180 mg; 1- do 3-krat
Suhi etanolni ekstrakt	odmerki, ki ustrezajo 0,5 do 4 g posušene korenine; 1- do 3-krat
Tinktura	10 do 15 mL; 1- do 3-krat

*Monografija navaja različne vrste ekstraktov, odvisno od topila, njegove koncentracije ter razmerja med rastlinsko drogo in topilom.

2.2.3 Neželeni učinki in opozorila

Neželeni učinki se ob upoštevanju priporočil za uporabo pojavijo zelo redko. Dokumentirali so alergijske reakcije, glavobol, hipertenzijo, nemir, razdražljivost, anksioznost, evforijo in drisko (4, 16). Elevterokoka naj ne bi uporabljali bolniki s hipertenzijo, nosečnice in doječe matere ter otroci. Zanesljivih podatkov o interakcijah ni, svetujemo previdnost pri sočasnem jemanju antikoagulantov, hipoglikemikov ter antihipertenzivov (1).

2.2.4 Farmakološke in klinične raziskave

Domnevajo, da so nosilci adaptogenih učinkov eleuterokoka eleuterozidi. *In vitro* raziskave so med drugim pokazale protivirusne in protibakterijske, protivnetne, antioksidativne, nevroprotektivne in protitumorne lastnosti, *in vivo* raziskave na živalih pa antioksidativne, hipoglikemične, estrogenske in anabole, adaptogene in imunostimulativne učinke ter na ravni centralnega živčnega sistema sedativne in stimulative učinke (1, 15). V angleškem jeziku dostopne klinične raziskave niso pokazale statistično značilnih učinkov na kronično utrujenost (17, 18), na kakovost življenja pri bolnikih s hipertenzijo (1) in na dejavnike telesne zmogljivosti pri športnikih (19, 20), za uspešno pa se je pokazalo zdravljenje herpesa (21).

Poudariti moramo, da je klinično ovrednotenih učinkov eleuterokoka sicer veliko, vendar so raziskave večinoma dostopne le v ruski literaturi, poleg tega raziskovalci opozarjajo, da raziskave pogosto ne ustrezajo sodobnim standardom kakovosti. Stroka ima zato zelo deljeno mnenje o učinkovitosti jemanja pripravkov, ki vsebujejo eleuterokok.

2.3 ROŽNI KOREN

Znanstveno ime: *Rhodiola rosea* L. syn. *Sedum rosea* (L.) Scop. (rožni koren)

Družina: Crassulaceae (tolstičevke)

Rastlinska droga: *Rhodiolae rhizoma*, *Rhodiolae radix* (korenika in korenina rožnega korena)

Rožni koren je rastlina hladnih področij, ki jo pogosto srečamo tudi v slovenskih Alpah. Svoje ime je dobil po značilnem vonju korenine, ki vsebuje hlapne spojine eteričnega olja in spominja na vrtnice.

2.3.1 Učinkovine

Najpomembnejše učinkovine v korenini rožnega korena so (9):

- polisaharidi (3 %);
- feniletanoidi: *p*-tirozol (0,01 do 0,22 %) in salidrozyd (0,04 do 1,1 %);
- fenilpropanoidi (0,5 do 3,3 %): rozin (0,02 do 0,08 %), rozarin (0,02 do 0,11 %) in rozavin (0,06 do 1,4 %);
- flavonoidi (0,082 do 0,45 %): glikozidi gosipetina (rodolgin in rodolgidin), herbacetina (rodionin in rodiozin) in tricina, kempferol;
- monoterpenoidi: roziridol in njegov glikozid roziridin (0,07 do 0,38 %);
- eterično olje (0,05 %): dekanol (30 %), geraniol (13 %), 1,4-*p*-mentadien-7-ol (5 %), limonen (5 %), α -pinen (5 %) in dodekanol (4 %);
- cianogeni glikozidi: lotavstralin (0,01 %);
- acetofenoni: picein;
- derivati benzilalkohola: benzil-*O*- β -D-glukopiranozid;
- flavolignani: rodolol.

2.3.2 Uporaba in odmerjanje

Tradicionalno uporabljajo rožni koren za zdravljenje glavobola in pljučnih bolezni, odpravljanje utrujenosti, izboljšanje delovnih sposobnosti in koncentracije ter preprečevanje stresa (1). V okviru sodobne fitoterapije ima mesto med adaptogeni in psihostimulanti (4).

Priporočeno odmerjanje rožnega korena glede na monografijo Evropske agencije za zdravila je 144 do 200 mg kot enkratni odmerek in 144 do 400 mg kot dnevni odmerek (22). Monografija navaja uporabo rastlinske droge in suhega etanolnega ekstrakta, vendar odmerjanje ni podrobneje opredeljeno za posamezno vrsto pripravka. Jemanje naj bi bilo omejeno na starost nad 18 let (22) in na največ štiri mesece neprekinjene uporabe (4).

2.3.3 Neželeni učinki in opozorila

O varnosti uporabe rožnega korena je zelo malo podatkov. Neželeni učinki so povezani s prevelikimi odmerki in se navadno pojavijo kot alergijske reakcije in nespečnost (4). Izdelke je zato priporočljivo jemati zjutraj. Odsvetujemo sočasno uporabo učinkovin s podobnim kot tudi nasprotnim delovanjem, saj podatkov o interakcijah nimamo. Zaradi pomanjkljivega poznavanja varnosti odsvetujemo dolgoročno uporabo ter uporabo pri otrocih, nosečnicah in doječih materah (1, 4).

2.3.4 Farmakološke in klinične raziskave

Poznani nosilci adaptogenih lastnosti rožnega korena so rozin, rozarin, rozavin in salidrozyd, domnevajo pa, da k farmakološkim učinkom prispevajo tudi druge, še neidentificirane spojine. O rožnem korenu imamo na voljo vrsto farmakoloških in kliničnih raziskav. Od leta 1960 so na primer objavili več kot dvesto znanstvenih člankov, ki pa so večinoma dostopni le v ruskem jeziku. Navajajo *in vitro* in *in vivo* raziskave na živalih, s katerimi so dokazali protitumorno delovanje ter adaptogene in kognitivne učinke. V novejših kliničnih raziskavah so bili pripravki z rožnim korenem uspešni pri povečanju mentalnih sposobnosti (23), odpravljanju izgorelosti (24), blagih oblikah depresije (25) in kot psihostimulanti (4), nekatere raziskave pa ne potrjujejo smiselnosti jemanja (26, 27).

3 IMUNOSTIMULANTI

Mnoge zdravilne rastline delujejo na imunski sistem, vendar jih navadno ne uporabljamo za zdravljenje bolezni imunskega sistema. Uporabljamo jih kot imunostimulante, tj. snovi, ki spodbujajo delovanje imunskega sistema, ter na ta način zdravimo oziroma preprečujemo bolezni drugih organskih sistemov (4).

Najbolj znan in v vsakdanjem življenju tudi najpogosteje uporabljan rastlinski imunostimulant je ameriški slamnik, kot pomembno novejšo področje fitoterapije pa na koncu prispevka na kratko predstavljamo tudi zdravilne gobe.

Med rastlinskimi imunostimulanti velja omeniti tudi belo omele (*Viscum album* L.). Tradicionalno jo uporabljajo za zdravljenje povišanega krvnega tlaka, v zadnjem desetletju pa se je uveljavila kot najpogostejša alternativna metoda pri adjuvantnem zdravljenju raka (28). Čeprav je uradna medicina do uporabe bele omele v te namene večinoma zelo zadržana, pa imamo o njeni učinkovitosti na voljo kar nekaj kliničnih raziskav (29-32).

3.1 AMERIŠKI SLAMNIK

Znanstveno ime: *Echinacea* spp. (ameriški slamnik)*

Družina: Asteraceae (nebinovke)

Rastlinska droga: *Echinaceae radix*, *Echinaceae herba* (korenina in zel ameriškega slamnika)

*V farmaciji uporabljamo tri vrste ameriškega slamnika: *Echinacea purpurea* (L.) Moench Scop. (škrlatni ameriški slamnik), *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt. (bledi ameriški slamnik) in *Echinacea angustifolia* DC. (ozkolistni ameriški slamnik).

Ameriški slamnik so v medicinske namene prvi uporabili severnoameriški staroselci pred približno petsto leti. V Evropi je dobil vidnejše mesto med zdravilnimi rastlinami šele v 20. stoletju.

3.1.1 Učinkovine

Najpomembnejše učinkovine v korenini in zeli ameriškega slamnika so (9):

- derivati kavne kisline: cikorna kislina (0,6 do 2,1 %) in kaftarna kislina;
- alkamidi (0,01 do 0,04 %);
- poliacetileni (0,002 %);
- polisaharidi (arabinoramnogalaktani, glukoronoarabinoksilani, ksiloglukani).

3.1.2 Uporaba in odmerjanje

Tradicionalna uporaba ameriškega slamnika vključuje zdravljenje okužb, kot so bakterijske in virusne okužbe dihalnega in urogenitalnega sistema, trebušnih bolečin ter vnetij in poškodb kože in sluznic (1, 4). Uporaba v okviru sodobne fitoterapije temelji na izkušnjah tradicionalne medicine in je indicirana za podporno zdravljenje prehladov (33-35) in površinskih ran (36), na znanstvenih dokazih pa temelji uporaba zeli škrlatnega ameriškega slamnika za kratkotrajno preventivo in zdravljenje prehladov (36).

Odmerjanje v skladu z monografijami ameriškega slamnika Evropske agencije za zdravila navajamo v preglednici 3. Zdravljenje moramo začeti ob prvih znakih prehlada. Jemanje naj bi bilo omejeno na starost nad 12 let ter na deset dni za peroralno uporabo in teden dni za dermalno uporabo (33-36).

Preglednica 3: Priporočeno odmerjanje po monografiji Evropske agencije za zdravila (za podrobnejše podatke glejte literaturne vire 33-36*).

Rastlina, rastlinska droga		Dnevni odmerek
<i>E. purpurea</i> , korenina	suhi etanolni ekstrakt	40 mg; do 9-krat
<i>E. purpurea</i> , zel	sok in posušen sok	6 do 9 mL 10 do 20 g/100 g mazila (dermalna uporaba)
<i>E. pallida</i> , korenina	suhi etanolni ekstrakt tinktura	24 do 30 mg; 3- do 4-krat 25 kapljic, 5-krat
<i>E. angustifolia</i> , korenina	zdrobljena ali uprašena korenina uprašena korenina tinktura tekoči ekstrakt	zdravilni čaj (infuz): 1 g/150 mL vode; 3-krat zdravilni čaj (dekoka): 1 g/150 mL vode; 3-krat 500 mg; do 3-krat 1 do 2 mL; 3-krat 0,25 do 1 mL; 3-krat

*Monografija navaja različne vrste ekstraktov, odvisno od etanola in njegove koncentracije ter razmerja med rastlinsko drogo in topilom.

3.1.3 Neželeni učinki in opozorila

Neželeni učinki so zelo redki. Pojavijo se lahko alergijske reakcije v obliki kožnih izpuščajev, srbenja, otekline obraza, težkega dihanja, vrtoglavice ali zmanjšanja krvnega tlaka. Uporaba je kontraindicirana pri progresivnih sistemskih boleznih, na primer tuberkulozi, levkemiji, kolagenozi, multipli sklerozi, aidsu in drugih avtoimunskih boleznih. Uporabe ne priporočamo v nosečnosti in v času dojenja ter pri znani preobčutljivosti na rastline iz družine nebinovk (33-36).

3.1.4 Farmakološke in klinične raziskave

Nosilci farmakološkega delovanja ameriškega slamnika so derivati kavne kisline, alkaloidi in polisaharidi. Rastlina sodi med najbolj proučene zdravilne rastline, tako z vidika *in vitro* in *in vivo* laboratorijskih raziskav kot tudi kliničnih raziskav. Deluje na primer protivirusno (37), protibakterijsko (38) in protiglavno (39), protivnetno (40), antioksidativno (40) ter imunomodulatorno (1). Na voljo imamo tudi precejšnje število (kakovostnih) kliničnih raziskav, v katerih so vrednotili učinkovitost njegove uporabe pri okužbah zgornjih dihalnih poti ter kot imunostimulant. V splošnem potrjujejo ugodne učinke, kot je na primer zmanjšanje jakosti in trajanja simptomov prehlada ali gripe, in sicer ob takojšnjem začetku jemanja (1, 4, 41, 42), negativni izidi pa so večinoma vezani na uporabo v preventivne namene (4, 43, 44).

3.2 ZDRAVILNE GOBE

Gobe oziroma botanično bolj pravilno glive ne sodijo med rastline, ampak sestavljajo lastno kraljestvo organizmov. Uporaba zdravilnih gob v sodobni fitoterapiji temelji zlasti na njihovih imunostimulativnih lastnostih. Na tem področju najbolj raziskane so na primer svetlikava pološčanka (*Ganoderma lucidum*), užitni nazobčanec (*Lentinus edodes*), velika zraščanka (*Grifola frondosa*), pisana ploskocevkica (*Trametes versicolor*), resasti bradovec (*Hericium erinaceus*) in navadna cepilistka (*Schizophyllum commune*).

Med učinkovinami so za imunostimulativne učinke zdravilnih gob v največji meri odgovorni (4):

- (i) visokomolekulski polisaharidi (β -D-glukani): na primer lentinan iz užitnega nazobčanca in shizofilan iz navadnega nazobčanca;
- (ii) terpenoidi: na primer ganoderična, ganoderenična in ganodermična kislina, ganoderal ter ganoderiol iz svetlikave pološčanke;
- (iii) proteini: na primer FIP-fve iz zimske panjevke (*Flammulina velutipes*), FIP-vvo in FIP-vvl iz lupinaste nožničarke (*Volvariella volvacea*) in PCP iz luknjičarja (*Poria cocos*).

Klinične raziskave so nakazale oziroma potrdile ugodne učinke pri zdravljenju rakavih bolezni, kot so rak dojke, jeter, trebušne slinavke, želodca in črevesja, sladkorne bolezni, hiperlipidemije, hiperholesterolemije in kroničnega hepatitisa B (4).

4 SKLEP

Sodobne raziskave na področju fitoterapije so v zadnjem desetletju prinesle pomemben napredek pri razumevanju delovanja in posledično uporabi zdravilnih rastlin in zdravilnih gob z adaptogenim in imunostimulativnim delovanjem. Glavne prednosti njihove uporabe seveda izvirajo iz njihove učinkovitosti, zelo pomembno pa je tudi dejstvo, da je njihova uporaba ob upoštevanju navodil varna ter v splošnem povezana z malo in, pravzaprav še pomembneje, z blagimi neželenimi učinki oziroma kontraindikacijami.

5 LITERATURA

1. Veitch NC, Smith M, Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines. Pharmaceutical Press, 2013.
2. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. Front Pharmacol 2014; 4: 177.
3. Jeras M. Biološka zdravila in celični terapevtski pripravki za modulacijo vnetnih procesov. V: Kočevar Glavač N, Zvonar A. Biološka zdravila I. Fakulteta za farmacijo, 2014; 33.
4. Injac R, Kreft S. Imunski sistem. V: Kreft S, Kočevar Glavač N. Sodobna fitoterapija, z dokazi podprta uporaba zdravilnih rastlin. Slovensko farmacevtsko društvo, 2013; 72-123.
5. Schulz V, Hänsel R, Blumenthal M, Tyler VE. Rational Phytotherapy, A Reference Guide for Physicians and Pharmacists. Springer, 2004; 369-398.
6. Brekhman II, Dardymov IV. New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. Ann Rev Pharmacol 1969; 9: 419-430.
7. Panossian A, Wikman G, Wagner H. Plant adaptogens. III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action. Phytomedicine 1999; 6 (4): 287-300.
8. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Reflection paper on the adaptogenic concept. EMEA/HMPC/102655/2007.
9. Janeš D. Izvlečki. V: Janeš D, Kočevar Glavač N. Sodoba kozmetika, sestavine naravnega izvora. Širimo dobro besedo, 2015; 589-895.
10. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Community herbal monograph on *Panax ginseng* C. A. Meyer, radix. EMA/HMPC/321233/2012.
11. Reay JL, Scholey AB, Kennedy DO. *Panax ginseng* (G115) improves aspects of working memory performance and subjective ratings of calmness in healthy young adults. Hum Psychopharmacol 2010; 25 (6): 462-471.
12. Shishtar E, Sievenpiper JL, Djedovic V, Cozma AI, Ha V, Jayalath VH, Jenkins DJ, Meija SB, de Souza RJ, Jovanovski E, Vuksan V. The effect of ginseng (the genus *Panax*) on glycemic control: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. PLoS One 2014; 9 (9): e107391.
13. Wiklund IK, Mattsson LA, Lindgren R, Limoni C. Effects of a standardized ginseng extract on quality of life and physiological parameters in symptomatic postmenopausal women: a double-blind, placebo-controlled trial. Swedish Alternative Medicine Group. Int J Clin Pharmacol Res 1999; 19 (3): 89-99.
14. Jang DJ, Lee MS, Shin BC, Lee YC, Ernst E. Red ginseng for treating erectile dysfunction: a systematic review. Br J Clin Pharmacol 2008; 66 (4): 444-450.
15. Huang L, Zhao H, Huang B, Zheng C, Peng W, Qin L. *Acanthopanax senticosus*: review of botany, chemistry and pharmacology. Pharmazie 2011; 66 (2): 83-97.
16. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Community herbal monograph on *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim., radix. EMA/HMPC/680618/2013.
17. Hartz AJ, Bentler S, Noyes R, Hoehns J, Logemann C, Sinift S, Butani Y, Wang W, Brake K, Ernst M, Kautzman H. Randomized controlled trial of Siberian ginseng for chronic fatigue. Psychol Med 2004; 34 (1): 51-61.
18. Schaffler K, Wolf OT, Burkart M. No benefit adding *Eleutherococcus senticosus* to stress management training in stress-related fatigue/weakness, impaired work or concentration, a randomized controlled study. Pharmacopsychiatry 2013; 46 (5): 181-190.
19. Asano K, Takahashi T, Miyashita M, Matsuzaka A, Muramatsu S, Kuboyama M, Kugo H, Imai J. Effect of *Eleutherococcus senticosus* extract on human physical working capacity. Planta Med 1986; (3): 175-177.
20. Dowling EA, Redondo DR, Branch JD, Jones S, McNabb G, Williams MH. Effect of *Eleutherococcus senticosus* on submaximal and maximal exercise performance. Med Sci Sports Exerc 1996; 28 (4): 482-489.

21. Williams M. Immunoprotection against herpes simplex type II infection by *Eleutherococcus* root extract. Int J Altern Complement Med 1995; 13: 9-12.
22. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Community herbal monograph on *Rhodiola rosea* L., rhizoma et radix. EMA/HMPC/232091/2011.
23. Darbinyan V, Kteyan A, Panossian A, Gabrielian E, Wikman G, Wagner H. *Rhodiola rosea* in stress induced fatigue--a double blind cross-over study of a standardized extract SHR-5 with a repeated low-dose regimen on the mental performance of healthy physicians during night duty. Phytomedicine 2000; 7 (5): 365-371.
24. Olsson EM, von Schéele B, Panossian AG. A randomised, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study of the standardised extract shr-5 of the roots of *Rhodiola rosea* in the treatment of subjects with stress-related fatigue. Planta Med 2009; 75 (2): 105-112.
25. Darbinyan V, Aslanyan G, Amroyan E, Gabrielyan E, Malmström C, Panossian A. Clinical trial of *Rhodiola rosea* L. extract SHR-5 in the treatment of mild to moderate depression. Nord J Psychiatry 2007; 61 (5): 343-348.
26. Punja S, Shamseer L, Olson K, Vohra S. *Rhodiola rosea* for mental and physical fatigue in nursing students: a randomized controlled trial. PLoS One 2014; 9 (9): e108416.
27. Shanely RA, Nieman DC, Zwetsloot KA, Knab AM, Imagita H, Luo B, Davis B, Zubeldia JM. Evaluation of *Rhodiola rosea* supplementation on skeletal muscle damage and inflammation in runners following a competitive marathon. Brain Behav Immun 2014; 39: 204-210.
28. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Assessment report on *Viscum album* L., herba. EMA/HMPC/246778/2009.
29. Grossarth-Maticek R, Ziegler R. Prospective controlled cohort studies on long-term therapy of cervical cancer patients with a mistletoe preparation (Iscador). Forsch Komplementmed 2007; 14 (3): 140-147.
30. Grossarth-Maticek R, Ziegler R. Prospective controlled cohort studies on long-term therapy of ovarian cancer patients with mistletoe (*Viscum album* L.) extracts Iscador. Arzneimittelforschung 2007; 57 (10): 665-78.
31. Kim KC, Yook JH, Eisenbraun J, Kim BS, Huber R. Quality of life, immunomodulation and safety of adjuvant mistletoe treatment in patients with gastric carcinoma - a randomized, controlled pilot study. BMC Complement Altern Med 2012; 12: 172.
32. Tröger W, Galun D, Reif M, Schumann A, Stanković N, Miličević M. *Viscum album* [L.] extract therapy in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer: a randomised clinical trial on overall survival. Eur J Cancer 2013; 49 (18): 3788-3797.
33. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Community herbal monograph on *Echinacea purpurea* (L.) Moench, radix. EMA/HMPC/577784/2008.
34. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Community herbal monograph on *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., radix. EMA/HMPC/332350/2008.
35. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Community herbal monograph on *Echinacea angustifolia* DC., radix. EMA/HMPC/688216/2008.
36. European Medicines Agency, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). European Union herbal monograph on *Echinacea purpurea* (L.) Moench, herba recens. EMA/HMPC/48704/2014 Corr¹.
37. Pleschka S, Stein M, Schoop R, Hudson JB. Anti-viral properties and mode of action of standardized *Echinacea purpurea* extract against highly pathogenic avian influenza virus (H5N1, H7N7) and swine-origin H1N1 (S-OIV). Virol J 2009; 6: 197.
38. Sharma SM, Anderson M, Schoop SR, Hudson JB. Bactericidal and anti-inflammatory properties of a standardized *Echinacea* extract (Echinaforce): dual actions against respiratory bacteria. Phytomedicine 2010; 17 (8-9): 563-568.
39. Binns SE, Purgina B, Bergeron C, Smith ML, Ball L, Baum BR, Arnason JT. Light-mediated antifungal activity of *Echinacea* extracts. Planta Med 2000; 66 (3): 241-244.
40. Aarland RC, Bañuelos-Hernández AE, Fragoso-Serrano M, Sierra-Palacios ED, Díaz de León-Sánchez F, Pérez-Flores LJ, Rivera-Cabrera F, Mendoza-Espinoza JA. Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of *Echinacea purpurea* and *Echinacea angustifolia* extracts. Pharm Biol 2017; 55 (1): 649-656.
41. Lindenmuth GF, Lindenmuth EB. The efficacy of *Echinacea* compound herbal tea preparation on the severity and duration of upper respiratory and flu symptoms: a randomized, double-blind placebo-controlled study. J Altern Complement Med 2000; 6 (4): 327-334.
42. Goel V, Lovlin R, Barton R, Lyon MR, Bauer R, Lee TD, Basu TK. Efficacy of a standardized *Echinacea* preparation (Echinilin) for the treatment of the common cold: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. J Clin Pharm Ther 2004; 29 (1): 75-83.

43. O'Neil J, Hughes S, Lourie A, Zweifler J. Effects of *Echinacea* on the frequency of upper respiratory tract symptoms: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 100 (4): 384-388.
44. Sperber SJ, Shah LP, Gilbert RD, Ritchey TW, Monto AS. *Echinacea purpurea* for prevention of experimental rhinovirus colds. *Clin Infect Dis* 2004; 38 (10): 1367-1371.

Mikrobiota in imunski sistem – priložnosti za nove preventivne in terapevtske pristope

izr. prof. dr. Mojca Lunder, mag.farm.

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

Povzetek

Človeška koža in sluznice nudijo življenjsko okolje številnim mikroorganizmom. V najbolj gosto naseljenih delih prebavil, v debelem črevesu, se v vsakem gramu črevesne vsebine nahaja milijarda bakterij. Uravnotežena črevesna mikrobiota je za gostitelja zelo pomembna. Sodeluje pri razgradnji hrane, tvori določene vitamine in druge metabolite, sodeluje pri premikanju hrane skozi prebavila, preprečuje naseljevanje in prevlado patogenih bakterij. Vedno bolj jasna postaja tudi vloga mikrobiote pri razvoju in kasnejšem normalnem delovanju imunskega sistema. Sestava mikrobiote se pri številnih bolezenskih stanjih značilno spremeni. Ali je to posledica bolezni, ali pa je spremenjena mikrobiota eden od vzrokov za razvoj teh bolezni, še ni popolnoma pojasnjeno. Ponovno vzpostavljanje raznolike in zdrave mikrobiote kljub temu predstavlja zanimivo strategijo zdravljenja in/ali preprečevanja določenih bolezni. Pomemben vpliv na mikrobioto ima hrana, predvsem prebiotiki in probiotiki. Možnost za celovito prenovo mikrobiote pa predstavlja fekalna transplantacija.

Vsebina

- 1 UVOD
- 2 MIKROBIOTA IN MIKROBIOM
 - 2.1 Razvoj mikrobiote
- 3 VPLIV MIKROBIOTE NA GOSTITELJA
 - 3.1 Razgradnja hrane in drugih snovi ter sinteza pomembnih metabolitov
 - 3.2 Zaščita pred patogenimi mikroorganizmi
 - 3.3 Imunomodulatorno delovanje
- 4 VPLIV GOSTITELJA NA MIKROBIOTO
 - 4.1 Hrana/Prebiotiki
 - 4.2 Probiotiki
 - 4.3 Transplantacija fekalne mikrobiote
- 5 SKLEP
- 6 LITERATURA

1 UVOD

Mikrobi so na Zemlji obstajali veliko pred sesalci. Slednji so se prilagodili oziroma razvili skupaj z njimi. Vse živali lahko obravnavamo kot nekakšen dualističen organizem sestavljen iz lastnih celic in komenzalnih mikroorganizmov (mikrobiote). Razvoj in ohranjanje zdrave mikrobiote sta za sesalce izjemno pomembna. Mikrobiota prebavnega trakta vzdržuje simbiotski odnos s sluznico prebavil in ima pomembne metabolne, imunomodulatorne in zaščitne funkcije, ki vplivajo na gostitelja (1).

2 MIKROBIOTA IN MIKROBIOM

Mikrobiota je izraz, ki zajema vse mikroorganizme (bakterije, arheje, evkarionte in viruse), ki se nahajajo v ali na gostitelju ali posameznem telesnem predelu gostitelja (2). Številni viri navajajo, da naj bi število celic, ki sestavlja mikrobioto, kar desetkrat presegalo število telesnih celic človeka. Vendar novejša raziskave kažejo, da je to število nekoliko nižje in da je razmerje celic gostitelja in mikrobiote 1:1 (3). Zaradi obilja hrane, stalne temperature in velike površine je največ mikroorganizmov v prebavilih. Po novejših izračunih črevesno mikrobioto sestavlja 4×10^{13} bakterij (3). Več kot 1000 različnih vrst bakterij pa pripada le nekaj deblom bakterijskega kraljestva. Najpogosteje pripadajo debloma *Firmicutes* in *Bacteroidetes*, v manjši meri pa še deblom *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, and *Verrucomicrobia* (4).

Večine mikroorganizmov človeškega organizma zaradi težavne kulture še niso izolirali. Napredek v tehnologiji sekvenciranja in bioinformatičnih analiznih metod pa omogoča preučevanje teh kompleksnih združb s tako imenovanim metagenomskim pristopom neposredno iz njihovega naravnega okolja. Človeška mikrobiota vsebuje več kot 5 milijonov genov, ki jih s skupnim izrazom imenujemo mikrobiom. Število genov mikrobiote za dva velikostna razreda presega število genov človeškega gostitelja in predstavljajo zapis za ogromno število produktov, ki z raznolikimi biokemijskimi in metabolnimi aktivnostmi dopolnjujejo gostiteljeve fiziološke funkcije (5). Leta 2007 se je pričel projekt Človeški mikrobiom (angleško *Human microbiome project*). Njegov glavni cilj je raziskati združbe mikroorganizmov iz različnih delov človeškega telesa (koža, usta in nos, prebavila in urogenitalni trakt) ter preučiti njihovo vlogo pri nastanku bolezni in pri vzdrževanju zdravja (6).

2.1 Razvoj mikrobiote

Razvoj mikrobiote se prične takoj ob rojstvu, ko novorojenčka poselijo prve bakterije, ki sestavljajo vaginalno in fekalno mikrobioto mame. Na sestavo mikroorganizmov močno vpliva način poroda. Pri porodu s carskim rezom pride novorojenček najprej v stik z bakterijami kože, kar pomeni odsotnost striktnih anaerobov in večje število fakultativnih anaerobov, kot je na primer rod *Clostridium* (7). Mikrobiota je v tem primeru manj raznovrstna, razlike pa so opazne še pri starosti 6 mesecev (8). Takšen način poroda povezujejo z večjim tveganjem za razvoj različnih bolezni v kasnejšem življenju, kot so alergije, astma, bolezni prebavnega trakta, debelost in diabetes. Pri tveganju za razvoj bolezni imata svojo vlogo tudi sestava mikrobiote in njen vpliv na gostitelja (8, 9). Na sestavo in raznolikost mikrobiote močno vpliva tudi način hranjenja novorojenčka, bodisi z dojenjem

ali z mlečno formulo. Dojeni novorojenčki razvijejo stabilnejšo in enakomernejšo populacijo mikroorganizmov (10). Razlike zbledijo med prvim in drugim letom življenja z uvedbo trdne hrane, ko mikrobiota postane podobna kot pri odraslih (11). Sistematični pregledi dostopnih podatkov dojenje povezujejo z zaščitno vlogo pri driskah in nekrotizirajočem enterokolitisu v obdobju po rojstvu, z manjšim tveganjem za alergije in avtoimune bolezni v otroštvu ter z manjšim tveganjem za razvoj vnetnih črevesnih bolezni, kardiovaskularnih bolezni, debelosti in diabetesa tipa 2 v odrasli dobi (11).

Na sestavo črevesnih bakterij vplivajo še genetika gostitelja in vplivi okolja, kamor sodijo način prehrane, življenjski slog, stres, bolezni, jemanje zdravil (predvsem protibakterijskih učinkovin), geografske razlike in higiena (12). Današnji način življenja, ki goji kult pretirane higiene in sterilnosti, zanesljivo spreminja način, kako se črevo otroka srečuje in postopoma poseljuje z novimi bakterijskimi vrstami. Po tako imenovani higieni teoriji je visoka higiena sodobnega načina življenja in s tem manjša možnost mladega organizma, da oblikuje raznoliko črevesno mikrofloro, eden od pomembnih vzrokov za ogromen porast cele vrste bolezni, ki so povezane z nenormalnim imunskim odzivom (13).

Pri odraslem človeku je mikrobiota relativno stabilna, prilagojena in specifična za posameznika. Razmerja med deležem različnih vrst črevesnih mikroorganizmov se med posamezniki razlikujejo kot prstni odtisi. V zadnjem času poskušajo znanstveniki razdeliti ljudi v različne skupine - enterotipe, ki imajo po sestavi ali funkciji podobno mikrobioto (14).

3 VPLIV MIKROBIOTE NA GOSTITELJA

3.1 Razgradnja hrane in drugih snovi ter sinteza pomembnih metabolitov

Mikroorganizmi omogočijo razgradnjo kompleksnih, za človeka neprebavljivih polisaharidov in tako zagotovijo dodaten vir hrane zase in za epiteljske celice prebavil (15). Pri tem tvorijo različne metabolite, med katerimi so še posebej pomembne kratkoverižne maščobne kisline, kot so ocetna, propanojska in butanojska kislina. Njihovi receptorji se nahajajo na različnih telesnih celicah, tudi na enteroendokrinih in imunskih celicah, zato vpliv teh metabolitov sega tudi izven prebavil. Vplivajo na gibanje črevesja (hitrost premikanja hrane skozi prebavila), homeostazo glukoze, metabolizem lipidov, prehajajo krvno-možgansko bariero in vplivajo na apetit in vnos hrane. Njihova bistvena vloga je tudi delovanje na imunske celice prebavnega trakta, kjer preko različnih mehanizmov spodbujajo protivnetne in tolerogene poti (16). Butanojska kislina v prebavnem traktu predstavlja pomemben vir energije za epiteljske celice prebavil, ima protivnetno in protitumorno delovanje in vzdržuje zdravo ravnovesje v črevesju (17).

Iz aminokislin v lumnu prebavil tvorijo bakterije različne majhne signalne molekule, na primer histamin iz L-histidina (18) in gama-aminobutirno kislino (GABA) iz glutamata (19). Te delujejo periferno na celice v prebavilih in tudi na bolj oddaljene sisteme, kot je centralno živčevje (20). Nekatere vrste bakterij lahko razgradijo oksalat, ki nastaja pri fermentaciji ogljikovih hidratov in s tem zmanjšajo tveganje za nastanek oksalatnih ledvičnih kamnov (21). Mikrobiota skrbi za sintezo vitamina K in nekaterih vitaminov iz skupine B (22). Nekatere bakterije sintetizirajo konjugirano linolno kislino (CLA), ki ima številne ugodne učinke, med njimi antidiabetično, antiaterogeno in imunomodulatorno delovanje (23).

Mikroorganizmi sodelujejo tudi pri razgradnji polifenolov v hrani in vplivajo na metabolizem peroralno zaužitih zdravil (23).

3.2 Zaščita pred patogenimi mikroorganizmi

Ogromno število bakterij v tesnem stiku z epitelijskim tkivom predstavlja izziv za imunski sistem prebavnega trakta, saj mora biti ta tolerant do komenzalnih mikroorganizmov in hkrati omejevati bakterijsko rast, predvsem prevlado prisotnih patogenov. Aktivacija imunskega sistema mora biti nadzorovana, da ne pride do kroničnega vnetja. Mikroorganizmi v človeškem telesu izločajo protibakterijske snovi, s katerimi uničujejo druge škodljive bakterije, ki pridejo v naš prebavni trakt. Patogenim bakterijam onemogočijo naseljevanje tako, da z njimi tekmujejo za hranila in za življenjski prostor.

Mikrobiota preko svojih strukturnih komponent (peptidoglikan, lipopolisaharidi, lipid A, bakterijska RNA/DNA, beta-glukani iz kvasovk) in metabolitov, ki jih izloča, aktivira vzorčno prepoznavne receptorje ali receptorje PRR (angleško *pattern recognition receptors*). To sproži številne signalne poti, ki okrepijo barierno vlogo sluznice prebavil. Med drugim pride do nastajanja in izločanja protimikrobnih peptidov iz gostiteljevih Panethovih celic in glikoproteinov mukusa, ki zagotavljajo mehansko zaščito (23, 24).

3.3 Imunomodulatorno delovanje

Že dolgo je znano da je funkcionalna zrelost imunskega sistema odvisna od raznolike mikrobiote. Mikrobiota interagira s celicami prirojenega in pridobljenega imunskega odziva. Interakcija je dvosmerna. V teh imunomodulatornih procesih sodelujejo celice limfatičnega tkiva v črevesju, limfociti T, limfociti B (plazmatke), ki tvorijo protitelesa IgA, limfoidne celice, makrofagi in dendritične celice, ki se nahajajo v vezivni plasti sluznice pod epitelijem. Vplivi mikrobiote niso omejeni le na prebavni trakt, temveč vplivajo tudi na odzive sistemskih imunskih komponent in drugih organov, vključno s centralnim živčevjem (12, 23).

Največ informacij o vplivu na razvoj in delovanje imunskega sistema prihaja iz raziskav živalskih modelov, kot so sterilne živali (brez mikrobiote). Sterilne živali lahko kasneje inokulirajo z eno ali več vrstami mikroorganizmov ali celotno fekalno mikrobioto izbranega donorja (druge živali ali človeka) ter proučujejo vpliv antibiotikov ali probiotikov (12). Pri živalih, ki jih vzdržujejo v sterilnem okolju so komponente imunskega sistema nezrele in slabo razvite. Limfoidni folikli, Peyerjeve plošče in mezenterični limfni vozli so slabše razviti, manjši in manj pogosti. Manj je dendritičnih celic in makrofagov. Proliferacija in diferenciacija limfocitov T (CD4+ and CD8+) je manjša, nastaja manj protiteles IgA, limfocitov Th17 skoraj ni, manj pa je tudi regulatornih limfocitov T (Treg). Ne samo celice imunskega sistema, prizadeta sta tudi razvoj in diferenciacija epitelijskega prebavila, kar se kaže v manjši gostoti črevesnih resic, povečanem slepem črevesu, zmanjšanem peristaltičnem gibanju in manjšem izločanju protimikrobnih peptidov. Po drugi strani pa je pri sterilnih živalih povečano število invariantnih naravnih T celic ubijalk, ki so znane po svoji vlogi pri kroničnih vnetnih boleznih, astmi in metabolnem sindromu. Povečano je tudi nastajanje protiteles IgE (25). Do kolonizacije z mikrobioto mora priti znotraj kritičnega časovnega okna (pri sterilnih miših je to v času do enega meseca po skotitvi), sicer imunski sistem nikoli ne doseže ustrezne zrelosti (25).

Epitelijske celice kot odziv na mikrobioto in njene metabolite aktivirajo različne signalne poti, ki sodelujejo pri razvoju imunskega sistema. Neposreden stik nekaterih komenzalnih bakterij z receptorji PRR ne sproži le izločanja protimikrobnih peptidov, temveč aktivira tudi dendritične celice, makrofage, nespecifične limfoidne celice (*innate lymphoid cell*, ILC1 in ILC3) ter poveča izražanje citokinov in kemokinov (26). Ti citokini in kemokini skupaj z drugimi dejavniki usmerjajo diferenciacijo, distribucijo in efektorske funkcije limfocitov T, v smer fenotipov Th2 in Treg (27). Pod vplivom mikrobiote dendritične celice in makrofagi izločajo protivnetne citokine (IL-10, TGF- β) in spodbujajo diferenciacijo limfocitov B do plazmatk. Te izločajo protitelesa IgA in druge citokine (IL-23), ki spodbujajo nastanek limfocitov Th17 in nespecifičnih limfoidnih celic (27).

V zadnjem času ugotavljajo, da mikrobiota prebavil komunicira tudi s centralnim živčevjem in obratno. Signalne poti potekajo preko celic imunskega sistema, preko vagusnega živca in neposredno preko metabolitov, ki jih izloča mikrobiota. Vedno več dokazov je, da mikrobiota vpliva tudi na obnašanje, zaznavanje, razpoloženje in čustva (9).

4 VPLIV GOSTITELJA NA MIKROBIOTO

Številne raziskave so pokazale, da je uravnotežena mikrobiota, predvsem v smislu čim večje raznolikosti, povezana z boljšim zdravjem gostitelja. Različni dejavniki, najpogostejše neustrezna prehrana, določena zdravila (predvsem antibiotiki), stres, črevesne okužbe in druge bolezni lahko to ravnotežje porušijo in vodijo v stanje disbioze. Posledice porušenega ravnotežja se ne odražajo le v delovanju prebavil, temveč tudi v delovanju drugih oddaljenih organov (12, 28). Ponovna vzpostavitev in ohranjanje uravnotežene mikrobiote že predstavlja pomembno strategijo pri zdravljenju in preprečevanju različnih okužb in gastrointestinalnih motenj, kot je na primer diareja. Poznavanje vzročno-posledičnih razmerij, ki vodijo v spremenjeno sestavo mikroorganizmov v črevesju, lahko spremeni način zdravljenja in preprečevanja še številnih drugih bolezni, za katere je značilna disbioza, kot so na primer kronična vnetna črevesna bolezen, debelost, ateroskleroza, diabetes tipa 1, alergije, astma, nekatere oblike raka in celo bolezni povezane z delovanjem možganov in živčevja, kot so depresija, anksioznost in avtizem. Na mikrobioto lahko ugodno vplivamo s prehrano, predvsem z vnosom prebiotikov in probiotikov. Vedno več raziskav kaže ugodne vplive celovite prenovne mikrobiote s fekalno transplantacijo.

4.1 Hrana/Prebiotiki

Izmed vseh vplivov okolja ima na sestavo in raznolikost mikrobiote največji vpliv način prehranjevanja. Za ljudi, ki se prehranjujejo s hrano, ki je bogata s proteini in živalskimi maščobami, je značilno povečano število bakterij iz rodu *Bacteroides*. Za tiste, ki uživajo večinoma ogljikove hidrate in enostavne sladkorje, je značilno povečano število bakterij iz rodu *Prevotella* (29). Nezdruva hrana z visoko vsebnostjo maščob in sladkorja (zahodnjaška prehrana) spremeni sestavo in zmanjša raznolikost mikrobiote. Pri poskusnih živalih pride do značilnih sprememb, ki ustvarijo provnetno okolje (30). Ena izmed pomembnih sestavin hrane so prebiotiki, ki predstavljajo nerazgradljive sestavine hrane, ki spodbujajo rast in/ali aktivnost zdravju koristnih bakterij.

Veliko število študij kaže, da se pri prehrani bogati s prebiotiki poveča število bakterij rodu *Bifidobacterium* in poveča nastajanje koristnih metabolitov, kot so kratkoverižne maščobne kisline (1). Mlečne formule za novorojenčke, ki vsebujejo prebiotike, povečajo število bakterij rodu *Bifidobacterium* v primerjavi z navadnimi mlečnimi formulami in sestavo novorojenčkove mikrobiote približajo tisti pri dojenih novorojenčkih (31).

Različne bakterijske vrste selektivno izkoriščajo različne prebiotike kot vir hrane. Poznavanje specifičnih bakterijskih vrst, ki so manj številčne pri posameznih boleznih, in njihove vloge pri razvoju bolezni, bi tako lahko omogočilo ciljno uporabo prebiotikov (1). Na primer število bakterij *Faecalibacterium prausnitzii*, ki so v *in vitro* in *in vivo* poskusih pokazale izrazito protivnetno delovanje, se pri uporabi prebiotikov fruktanov in pektina poveča (32). Ciljno povečevanje njihovega števila z ustreznimi prebiotiki, tako predstavlja zanimivo terapevtsko možnost.

4.2 Probiotiki

Probiotiki so živi mikroorganizmi, ki imajo ugodno delovanje na gostitelja, če jih zaužije v zadostnih količinah. V prehranskih dopolnilih za ljudi in v krmi za živali se najpogosteje uporabljajo bakterije iz rodu *Lactobacillus*, *Streptococcus* in *Bifidobacterium*. Evropska agencija za varnost hrane (EFSA) je do sedaj za uporabo probiotikov pri ljudeh odobrila le trditev, da spodbujajo razgradnjo laktoze v prebavnem traktu. Vendar število znanstvenih dokazov in kliničnih študij, ki kažejo, da je specifičen sev ali kombinacija sevov učinkovita pri različnih boleznih in drugih stanjih, vztrajno narašča (33, 34, 35). V prebavilih probiotične bakterije tekmujejo za hranila in življenjski prostor s patogenimi mikroorganizmi ter z izločanjem različnih metabolitov neposredno uničujejo patogene in spodbujajo delovanje imunskega sistema. Učinki so lahko posledica direktnega delovanja probiotičnih sevov ali posrednega delovanja preko interakcij z mikrobioto. Dokazano učinkoviti so pri zdravljenju in preprečevanju gastrointestinalnih motenj, kot so bakterijske ali virusne driske in driske, ki se razvijejo kot posledica jemanja antibiotikov. Probiotiki skrajšajo trajanje bolezni in ublažijo njen potek, do določene mere pa celo zmanjšujejo tveganje za okužbo in s tem za pojav driske. Trdni dokazi podpirajo tudi koristnost uporabe probiotikov pri preprečevanju zaprtja pri odraslih, pri lajšanju simptomov sindroma razdražljivega črevesa, pri preprečevanju alergijskih dermatitisov pri dojenčkih in otrocih ter pri preprečevanju respiratornih infekcij (33, 34, 35).

Vedno boljše poznavanje posameznih vrst mikroorganizmov prebavnega trakta in njihovih specifičnih učinkov na gostitelja bo omogočilo razvoj probiotikov nove generacije. Takšen primer bi lahko bila že zgoraj omenjena bakterija *Oxalobacter formigenes*, ki razgradi oksalat v črevesju in s tem zmanjša njegovo absorpcijo, izločanje z urinom in posledično tveganje za nastanek oksalatnih ledvičnih kamnov (36). Ovira, ki jo bo potrebno premagati, je, kako pridobivati striktne anaerobe na industrijskem nivoju. Taki mikroorganizmi tudi nimajo statusa »splošno priznani kot varni«, zato bo velik izziv zadostiti regulatornim zahtevam, preden bodo lahko prišli na tržišče.

4.3 Transplantacija fekalne mikrobiote

Ponovno vzpostavljanje uravnotežene mikrobiote s pomočjo prebiotikov in probiotikov je dolgotrajen proces. Hitrejši in bolj drastičen ukrep predstavlja fekalna transplantacija, tj. prenos fekalne mikrobiote iz zdravega donorja v črevo prejemnika, pri katerem je zaradi

disbioze prisotno določeno bolezensko stanje. Prvo znanstveno poročilo o fekalni transplantaciji sega v leto 1958 (37). Metoda se je od takrat do leta 2000 uporabljala le sporadično (38). Od 2000 in vse do danes je zanimanje in uporaba metode v velikem porastu. Donor fekalne mikrobiote je najpogosteje zdrav sorodnik ali prijatelj, ki mora pred posegom opraviti številna testiranja, ki pokažejo odsotnost določenih bolezni in patogenov, ki bi se lahko prenesli na prejemnika. V ZDA nastajajo banke fekalnih transplantatov, ki bodo omogočile tudi podrobnejše analize mikrobioma in metaboloma vzorcev (39). Vnos poteka rektalno (s kolonoskopskim katetrom) ali oro/nazalno (z duodenoskopom, preko nazoduodenalne cevke). Zelo pomembno je, da se viabilnost mikroorganizmov med transplantacijo ohrani (1).

Do sedaj se je metoda transplantacije fekalne mikrobiote najpogosteje in zelo uspešno uporabljala pri diarejah zaradi persistentne okužbe s *Clostridium difficile*, ki se pojavi po uporabi antibiotikov ali pri diarejah, ki so posledica jemanja antibiotikov. Stopnja ozdravljivosti je visoka, večja od 92 %, in boljša kot pri standardnem postopku zdravljenja z dodatnim jemanjem antibiotikov (40). Neželeni učinki povezani s postopkom transplantacije so redki, blagi in prehodni. Obetavni rezultati se kažejo tudi pri zdravljenju sindroma razdražljivega črevesa (41) in ulcerativnega kolitisa (42).

Veliko zanimanja zbuja možnost uporabe te metode tudi pri številnih drugih boleznih, kjer je mikrobiota značilno spremenjena, kot so Crohnova bolezen, metabolni sindrom, avtoimune bolezni, alergije, nevrološke in nevrodegenerativne bolezni. Za jasnejše odgovore o učinkovitosti te metode bo potrebno počakati na dobro izvedene, randomizirane in kontrolirane klinične študije. Tudi ustrezna pravila v povezavi s postopkom fekalne transplantacije s strani regulatornih institucij, kot je Evropska agencija za zdravila (EMA), še niso izoblikovana (1).

5 SKLEP

Naraščajoče število metagenomskih analiz nam daje vpogled v razlike v sestavi mikrobiote pri zdravih in bolnih posameznikih. V splošnem velja, da je za zdravo mikrobioto značilna velika raznolikost mikroorganizmov, zmanjšanje raznolikosti pa je povezano z bolezenskimi stanji. Do danes so ugotovili značilne spremembe mikrobiote pri več kot 25 različnih boleznih in sindromih. Gre za bolezni prebavnega trakta, kot so kronična vnetna črevesna bolezen, sindrom razdražljivega črevesa in rak debelega črevesa, a tudi metabolne bolezni, kot sta diabetes tipa 2 in debelost, ter celo nevrološke bolezni in motnje, med njimi Alzheimerjeva in Parkinsonova bolezen ter avtizem. Spremembe mikrobiote so prisotne tudi pri nekaterih avtoimunih boleznih (revmatoidni artritis, multipla skleroza) in alergijah (43). V večini primerov še ni jasno ali je sprememba mikrobiote vzrok ali posledica bolezenskega stanja. Kljub temu predstavlja mikrobiota zanimiv tarčni »organ«, ki odpira nove možnosti zdravljenja in preprečevanja bolezni.

6 LITERATURA

1. Scott KP, Antoine JM, Midtvedt T, van Hemert S. Manipulating the gut microbiota to maintain health and treat disease. *Microb Ecol Health Dis* 2015; 26: 25877.
2. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001; 292 (5519): 1115-1118.
3. Sender R, Fuchs S, Milo R. Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell* 2016; 164 (3): 337-340.
4. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489 (7415): 220-230.
5. Qin JJ, Li RQ, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464 (7285): 59-U70.
6. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, Bonazzi V, McEwen JE, Wetterstrand KA, Deal C et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res* 2009; 19 (12): 2317-2323.
7. Gronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28 (1): 19-25.
8. Salminen S, Gibson GR, McCartney AL, Isolauri E. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. *Gut* 2004; 53 (9): 1388-1389.
9. Borre YE, O'Keefe GW, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol Med* 2014; 20 (9): 509-518.
10. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe* 2011; 17 (6): 478-482.
11. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2: 94.
12. Sirisinha S. The potential impact of gut microbiota on your health: Current status and future challenges. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2016; 34 (4): 249-264.
13. Penders J, Gerhold K, Thijs C, Zimmermann K, Wahn U, Lau S, Hamelmann E. New insights into the hygiene hypothesis in allergic diseases: mediation of sibling and birth mode effects by the gut microbiota. *Gut Microbes* 2014; 5 (2): 239-244.
14. Jeffery IB, Claesson MJ, O'Toole PW, Shanahan F. Categorization of the gut microbiota: enterotypes or gradients? *Nat Rev Microbiol* 2012; 10 (9): 591-592.
15. Ramakrishna BS. Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 Suppl 4: 9-17.
16. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes* 2016; 7 (3): 189-200.
17. Greer JB, O'Keefe SJ. Microbial induction of immunity, inflammation, and cancer. *Front Physiol* 2011; 1: 168.
18. Thomas CM, Hong T, van Pijkeren JP, Hemarajata P, Trinh DV, Hu W, Britton RA, Kalkum M, Versalovic J. Histamine derived from probiotic *Lactobacillus reuteri* suppresses TNF via modulation of PKA and ERK signaling. *PLoS One* 2012; 7 (2): e31951.
19. De Biase D, Pennacchiotti E. Glutamate decarboxylase-dependent acid resistance in orally acquired bacteria: function, distribution and biomedical implications of the gadBC operon. *Mol Microbiol* 2012; 86 (4): 770-786.
20. Hemarajata P, Versalovic J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therap Adv Gastroenterol* 2013; 6 (1): 39-51.
21. Magwira CA, Kullin B, Lewandowski S, Rodgers A, Reid SJ, Abratt VR. Diversity of faecal oxalate-degrading bacteria in black and white South African study groups: insights into understanding the rarity of urolithiasis in the black group. *J Appl Microbiol* 2012; 113 (2): 418-428.
22. LeBlanc JG, Milani C, de Giori GS, Sesma F, van Sinderen D, Ventura M. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current Opinion in Biotechnology* 2013; 24 (2): 160-168.
23. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol* 2015; 21 (29): 8787-8803.
24. Macpherson AJ, Uhr T. Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science* 2004; 303 (5664): 1662-1665.
25. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 2016; 352 (6285): 539-544.

26. Kabat AM, Srinivasan N, Maloy KJ. Modulation of immune development and function by intestinal microbiota. *Trends Immunol* 2014; 35 (11): 507-517.
27. Kim CH. Host and microbial factors in regulation of T cells in the intestine. *Front Immunol* 2013; 4: 141.
28. Hawrelak JA, Myers SP. The causes of intestinal dysbiosis: a review. *Altern Med Rev* 2004; 9 (2): 180-197.
29. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; 334 (6052): 105-108.
30. Agus A, Denizot J, Thevenot J, Martinez-Medina M, Massier S, Sauvanet P, Bernalier-Donadille A, Denis S, Hofman P, Bonnet R et al. Western diet induces a shift in microbiota composition enhancing susceptibility to Adherent-Invasive *E. coli* infection and intestinal inflammation. *Sci Rep* 2016; 6: 19032.
31. Sierra C, Bernal MJ, Blasco J, Martinez R, Dalmau J, Ortuno I, Espin B, Vasallo MI, Gil D, Vidal ML et al. Prebiotic effect during the first year of life in healthy infants fed formula containing GOS as the only prebiotic: a multicentre, randomised, double-blind and placebo-controlled trial. *Eur J Nutr* 2015; 54 (1): 89-99.
32. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105 (43): 16731-16736.
33. Lunder M. 9 - Reviewing clinical studies of probiotics as dietary supplements: probiotics for gastrointestinal disorders, *Helicobacter* eradication, lactose malabsorption and inflammatory bowel disease. V: Berginc K, Kreft S. *Dietary Supplements: Safety, Efficacy and Quality*. Woodhead Publishing, 2015; 171-197.
34. Lunder M. 10 - Reviewing clinical studies of probiotics as dietary supplements: probiotics for atopic and allergic disorders, urinary tract and respiratory infections. V: Berginc K, Kreft S. *Dietary Supplements: Safety, Efficacy and Quality*. Woodhead Publishing, 2015; 171-197.
35. Lunder M. 11 - Reviewing clinical studies of probiotics as dietary supplements: probiotics for oral healthcare, rheumatoid arthritis, cancer prevention, metabolic diseases and postoperative infections. V: Berginc K, Kreft S. *Dietary Supplements: Safety, Efficacy and Quality*. Woodhead Publishing, 2015; 171-197.
36. Okombo J, Liebman M. Probiotic-induced reduction of gastrointestinal oxalate absorption in healthy subjects. *Urol Res* 2010; 38 (3): 169-178.
37. Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ. Fecal Enema as an Adjunct in the Treatment of Pseudomembranous Enterocolitis. *Surgery* 1958; 44 (5): 854-859.
38. Bakken JS. Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe* 2009; 15 (6): 285-289.
39. Kazerouni A, Burgess J, Burns LJ, Wein LM. Optimal screening and donor management in a public stool bank. *Microbiome* 2015; 3: 75.
40. Aroniadis OC, Brandt LJ. Intestinal microbiota and the efficacy of fecal microbiota transplantation in gastrointestinal disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2014; 10 (4): 230-237.
41. Allegretti JR, Hamilton MJ. Restoring the gut microbiome for the treatment of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol* 2014; 20 (13): 3468-3474.
42. Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H, Jr., Cloney D, Kugathasan S. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56 (6): 597-601.
43. 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: S45-56.

Prehranska dopolnila za krepitev imunskega sistema – pogled lekarniškega farmacevta

Maja Štubljar, mag. farm.

Dolenjske lekarne Novo mesto

Povzetek

Oslabljen imunski sistem vodi v vsakodnevno utrujenost in pogostejše okužbe. V lekarnah takrat svetujemo uporabo izdelkov za spodbujanje delovanja imunskega sistema. Pazljivi moramo biti pri svetovanju pacientom, ki jemljejo več zdravil hkrati, pri nosečnicah in doječih materah ter pri majhnih otrocih. Prav tako je potrebna dodatna pozornost pri ljudeh s presajenimi organi in pri bolnikih z rakom. Vitaminsko-mineralne pripravke priporočamo, kadar le-teh ni možno vnesti v primernih količinah s hrano. Večina vitaminsko-mineralnih pripravkov je namenjena le kratkotrajnemu jemanju oziroma predstavlja hitro pomoč ob povečanih potrebah. Dolgotrajnejšo uporabo svetujemo previdno, zgolj takrat, ko se prepričamo v namen jemanja in odsotnost interakcij z ostalimi zdravili, ki jih pacient uživa. Izdelki naravnega izbora so trend tudi v naših lekarnah. Tako za samozdravljenje imunske pomanjkljivosti najpogosteje svetujemo pripravke iz škrlatnega ameriškega slamnika in beta-glukane. V porastu je tudi raba probiotikov, pri katerih sta prav tako pomembna pravilen izbor in svetovanje, saj lahko le tako dosežemo želene učinke zdravljenja.

Vsebina

- 1 UVOD
- 2 SAMOZDRAVLJENJE IMUNSKE POMANJKLJIVOSTI
- 3 IZDELKI ZA SAMOZDRAVLJENJE IMUNSKE POMANJKLJIVOSTI
 - 3.1 Vitaminsko mineralni pripravki
 - 3.2 Izdelki naravnega izvora
 - 3.2.1 Škrlatni ameriški slamnik
 - 3.2.2 Beta-glukani
 - 3.3 Probiotiki
- 4 SKLEP
- 5 LITERATURA

1 UVOD

Živimo v času, ko nam ritma dneva ne urejata več le sonce in luna in moramo biti vedno brezhibnega zdravja, bistrih misli in nasmejanih lic. Zato si ne dovolimo predolgega počitka niti kadar zbolimo. Tako je v lekarnah opaziti porast prodaje izdelkov za krepitev imunskega sistema. Tem trendom sledijo tudi ponudniki izdelkov zaradi česar imamo vsako leto na voljo številne nove pripravke tako za otroke kot za odrasle. Le nekaj jih je registriranih kot zdravila, večino pa se trži kot prehranska dopolnila. Kdaj, kako in kaj svetovati je naloga in odgovornost lekarniških farmacevtov in tehnikov, ki skušamo na podlagi pridobljenih informacij izbrati tiste, ki lahko našim pacientom najbolj pomagajo.

2 SAMOZDRAVLJENJE IMUNSKE POMANJKLJIVOSTI

Oslabljen delovanje imunskega sistema se začne kazati z utrujenostjo in povečano dovzetnostjo za okužbe. Kadar odrasle osebe zbolijo za okužbami nekajkrat letno, otroci pa tudi do desetkrat letno, ne gre za resno obolenje imunskega sistema ampak za normalen odziv telesa na tujke. Največkrat se to zgodi ob povečani psihofizični obremenitvi, pomanjkanju spanja, neprimerni prehrani in ob vremenskih spremembah. V teh primerih lahko pacientom v lekarni pomagamo s svetovanjem pripravkov, ki spodbujajo delovanje imunskega sistema. Toda potrebno se je zavedati, da samozdravljenje s takšnimi izdelki ni vedno primerno. Tako je potrebna previdnost pri ljudeh, ki imajo presajene organe in redno uživajo imunosupresivna zdravila, saj lahko v teh primerih samozdravljenje vodi v zavrnitev organa. Dodatek imunostimulansov ima tako za posledico ravno nasproten učinek od primarnega zdravljenja. Prav tako moramo biti previdni, kadar svetujemo bolnikom, ki se zdravijo s kemoterapijo ali radioterapijo. Tudi resna avtoimunska obolenja, kot so multipla skleroza, sladkorna bolezen tipa I, revmatoidni artritis, lupus in še nekatera, potrebujejo dodatno pozornost. Jemanje imunomodulatorjev lahko v teh primerih poveča imunski odziv in povzroči ponovni izbruh ali poslabšanje primarne bolezni, saj pri teh boleznih imunski sistem sproži odziv napram lastnim celicam. Zdravljenje majhnih otrok, nosečnic in doječih mater prav tako prepustimo zdravnikom (1).

V lekarnah lahko vsem pacientom svetujemo tudi večjo skrb za zdrav življenjski slog. Tako v prvi meri svetujemo primerno in raznoliko prehrano, ki naj vsebuje veliko sveže zelenjave in sadja, neoluščena žita, stročnice ter ribe, lečo in belo meso namesto rdečega mesa. Pomembno je poudariti pitje zadostnih količin vode, opustitev kajenja in zmanjšanje vnosa alkohola. Nikakor ne smemo pozabiti na vsakodnevno gibanje, dovolj spanja in obvladovanje stresa. Tukaj je v pomoč pozitiven duh, ki raste s smehom, druženjem s prijatelji in bližnjimi ter v trenutkih posvečenih samemu sebi. Pretirana skrb za sterilnost okolice, doma in tudi telesa lahko vpliva na imunski sistem. Ugotovili so namreč, da je v takem okolju manjša možnost za primeren razvoj imunskega sistema otrok (1).

3 IZDELKI ZA SAMOZDRAVLJENJE IMUNSKÉ POMANJKLJIVOSTI V LEKARNAH

V naših lekarnah, po podatkih raziskave o najpogostejše priporočenih izdelkih brez recepta, za samozdravljenje imunske pomanjkljivosti največkrat svetujemo vitaminsko-mineralne pripravke, predvsem izdelke z ameriškim slamnikom in izdelke z beta-glukani (2). Poleg teh imamo na voljo probiotične izdelke, izdelke s čebeljim matičnim mlečkom, prehranska dopolnila s kolostrumom in napitke iz neobdelane zelenjave in sadja.

3.1 Vitaminsko-mineralni pripravki

Vitaminsko-mineralni pripravki vsebujejo uravnoteženo kombinacijo različnih vitaminov in mineralov, na voljo pa so tudi pripravki z le eno komponento in pripravki, ki poleg vitaminov in mineralov vsebujejo še izbrane aminokisline. Uravnotežene kombinacije vitaminov in mineralov so primerne za vzdrževanje zdravja in aktivnosti imunskega sistema predvsem ob pomanjkanju primernih hranil, bodisi zaradi nedosegljivosti sveže hrane v zimskem obdobju bodisi zaradi neprimernega vnosa hrane. Prav tako nekatera bolezenska stanja zmanjšajo apetit ali absorpcijo hranil oziroma terjajo njihovo povečano potrebo (3).

Večina pripravkov vsebuje **vitamin C** ali askorbinsko kislino, ki je vodotopen esencialen vitamin. Ima vlogo reducenta v oksidacijsko-redukcijskih reakcijah, je pomemben člen v presnovi hranil in ima aktivno vlogo v encimskih sistemih ter v delovanju imunskega sistema. Po peroralnem zaužitju se vitamin C hitro absorbira iz prebavil in se razporedi po tkivih. Na plazemske beljakovine se veže le do 25 % absorbiranega vitamina C. Presnavlja se v jetrih pretežno v dioksoglukonsko in oksalno kislino, ki se večinoma izločita z urinom. Presežen vitamin C se hitro izloči v nespremenjeni obliki z urinom. Takšno izločanje je sorazmerno z vnosom. Pri odmerkih večjih od 1-3 g pride do izločanja tudi z blatom. Fiziološko je v telesu prisotno 1500 mg askorbinske kisline (4,5).

Sočasna uporaba askorbinske kisline z nekaterimi zdravili ni primerna. Vitamin C poveča absorpcijo železa in njegovo toksičnost, zato lahko vnos z deferoksaminom poveča toksičnost železa v tkivih. Prav tako vitamin C poveča serumsko koncentracijo sočasno vnesenih estrogenov, v velikih odmerkih pa zmanjša absorpcijo antikoagulantov varfarina iz prebavil. Hkraten vnos sulfonamidov in askorbinske kisline lahko povzroči obarjanje sulfonamidnih kristalov v kislem urinu. Vnos velikih odmerkov vitamina C lahko zniža pH urina in privede do povečane reabsorpcije kislih učinkovin in do zmanjšanja reabsorpcije bazičnih učinkovin, kot so npr. triciklični antidepresivi, v ledvičnih tubulih. Pri bolnikih s hudo ledvično insuficienco dnevni vnos askorbinske kisline ne sme preseči 50 do 100 mg zaradi tveganja za nastanek hiperoksalemije in oksalatnih sedimentov v ledvicah (4,5).

Kljub temu, da ima vitamin C veliko terapevtsko širino in se presežek hitro izloči z urinom, lahko pride do zastrupitve. Njeni znaki so slabost, bruhanje, trebušni krči, driska, glavobol, vročinski oblivi, rdeča razdražena koža in pogostejše uriniranje. Veliki odmerki ali dolgotrajno jemanje lahko povzročijo hiperoksalurijo z večjo možnostjo obarjanja oksalatnih kamnov v sečilih, pojavi pa se lahko tudi metabolična acidoza. Ob pojavu neželenih učinkov je potrebno prekiniti vnos askorbinske kisline in težave zdraviti simptomatsko (4,5).

Poleg vitamina C v zdravilih registriranih za samozdravljenje zmanjšane odpornosti organizma pogosto najdemo **kalcij**, ki je esencialen mineral, nujno potreben za vzdrževanje primerne ravnovesja elektrolitov v organizmu. Pomanjkanje kalcija lahko povzroči živčno-

mišične motnje in demineralizacijo kosti. Kalcijeve soli so dobro topne v vodi, iz tankega črevesja pa se absorbira 25-40 % zaužitega kalcija. Le 1 % kalcija v telesu se nahaja v celičnih tekočinah, preostali je vezan v mineralnih strukturah kosti in zob. 50 % celokupnega kalcija v telesu se nahaja v fiziološko aktivni ionizirani obliki, 5 % kalcija je v kompleksih s citratnimi, fosfatnimi ali drugimi anioni, 45 % serumskega kalcija pa je vezanega na beljakovine, predvsem na albumin. Izloča se z urinom, blatom in potem. Pri uporabi pripravkov s kalcijem moramo biti previdni pri hiperkalciuriji, pri prisotnih kamnih v sečilih in pri ostalih ledvičnih obolenjih.

Prav tako moramo biti previdni pri sočasni uporabi kalcija z nekaterimi učinkovinami. Tiazidni diuretiki zmanjšajo izločanje kalcija z urinom ter povečajo tveganje za hiperkalciemijo, sistemski kortikosteroidi pa zmanjšajo absorpcijo kalcija. Kalcij zmanjša absorpcijo tetraciklinskih antibiotikov, peroralnih bifosfonatov in natrijevega fluorida, zato je potreben nekaj urni razmik med uživanjem navedenih zdravil in pripravkov s kalcijem. Vitamin D oziroma njegovi derivati povečajo absorpcijo kalcija. Oksalna kislina, ki se naravno nahaja v špinači in rabarbari ter fitinska kislina iz polnozrnatih žit, zmanjšata absorpcijo kalcija, zato je potrebno uživati kalcijeve produkte vsaj z dve urnim zamikom od navedene hrane. Do zastrupitve s kalcijem lahko pride po večmesečnem uživanju vsaj 2 g kalcija dnevno. Hiperkalciemija se kaže kot bruhanje, slabost, žeja, polidipsija, poliurija, dehidracija in obstipacija, privede pa lahko do kalcifikacije žilja in organov. Ob pojavu neželenih simptomov je pomembna primerna hidracija, lahko pa posežemo tudi po diuretikih Henleyeve zanke, npr. furosemidu, ki pospešijo izločanje kalcija. Pri bolnikih z ledvično odpovedjo je potrebna dializa (5).

Koencim Q₁₀ ali ubidekarenon je esencialna molekula v mitohondrijski dihalni verigi, sodeluje pri nastajanju ATP, deluje kot antioksidant in stabilizira celične membrane. Kot takšen je pomemben za ohranjanje in krepitev telesne zmogljivosti, predvsem v času telesne obremenitve in v času raznih obolenj. Koencim Q₁₀ je topen v maščobah, zato največjo absorpcijo dosežemo z uživanjem s hrano, ki vsebuje vsaj nekaj maščob. Po absorpciji iz črevesja se v jetrih veže na lipoproteine majhne in zelo majhne gostote (LDL in VLDL), s katerimi preide v tkiva, predvsem v srce, ledvice in jetra. Okoli 80 % vnesenega koencima Q₁₀ se nespremenjenega izloči z blatom, le okoli 8 % pa z urinom. Pomembna je interakcija z varfarinom, saj koencim Q₁₀ zmanjša njegovo koncentracijo, zaradi česar je potrebno odmerke prilagoditi. Koencim Q₁₀ zmanjša tudi odpornost tkiv na insulin, zato lahko pri sladkornih bolnikih nastopi hiperinsulinemija. Sladkornim bolnikom svetujemo spremljanje krvnega sladkorja in prilagajanje odmerka insulina ter peroralnih hipoglikemikov. Zelo redko in pri zelo visokih dnevniških odmerkih (večjih od 100 mg) se lahko pojavijo neželeni učinki, ki pa so blagi in ob znižanju dnevnega odmerka izzvenijo. Najpogostejši med njimi so bruhanje, navzea, dispepsija, diareja, izguba apetita in alergijski izpuščaj na koži (5).

Vitaminsko-mineralni pripravki z aminokislinami so najpogostejša izbira slovenskih uporabnikov ob akutnih težavah kot so prehladi, nahodi in ostale respiratorne težave. Aminokislino sodelujejo pri različnih mehanizmih imunskega sistema, npr. stabilizirajo črevesno sluznico, povečajo učinkovitost fagocitov, spodbujajo tvorjenje limfocitov, vplivajo na razvoj in regulacijo T- in B-celic imunskega sistema, spodbujajo izločanje interleukinov, spodbujajo humoralni imunski odziv proti virusom in prispevajo k izločanju protiteles. Ob oslABLjenem imunskem sistemu je zato pomemben zadosten vnos aminokislin, saj mora telo

v nasprotnem primeru izkoriščati lastne beljakovinske zaloge. Kadar ta vnos ni možen s kvalitetno hrano, posežemo po prehranskih dopolnilih (7).

Poleg zgoraj opisanih najpogostejše prisotnih vitaminov in mineralov v izdelkih za samozdravljenje, v njih pogosto najdemo tudi vitamine skupine B, vitamin E, cink, vitamin D₃, vitamin A, selen in magnezij. Vitaminsko-mineralni pripravki so v lekarnah na voljo v obliki peroralnih tablet in kapsul, sirupov, vrečk za pripravo napitkov in šumečih tabletah. Pri izbiri ustreznega vitaminsko-mineralnega pripravka moramo biti pozorni na morebitne kronične bolezni in redno terapijo z zdravili, prehranske navade in razvade uporabnika. Šele takrat lahko svetujemo primeren izdelek.

3.2. Izdelki naravnega izvora

Tradicionalno, slovenski obiskovalci lekarn radi posegamo po izdelkih naravnega izvora. Skoraj v vsakem gospodinjstvu je na voljo vsaj kakšna domača čajna mešanica, ki blaži številne zdravstvene težave.

3.2.1 Škrlatni ameriški slamnik

Izvleček škrlatnega ameriškega slamnika deluje imunostimulativno. Natančen mehanizem tega delovanja še ni popolnoma poznan, sloni pa na spodbujanju aktivnosti nevtrofilcev in makrofagov zaradi vsebnosti imunostimulativnih polisaharidov. Nevtrofili in makrofagi tako bolj aktivno fagocitirajo tujke in izločajo več dejavnika tumorske nekroze (TNF) in nekaterih interlevkinov, ki nato spodbudijo še ostale celice imunskega sistema. Ehinakozidu, derivatu kavne kisline, ki se nahaja v koreninah in cvetovih ameriškega slamnika, pripisujejo blago antibiotično delovanje. Izvleček ameriškega slamnika je tako v *in vitro* poskusih izkazoval takojšnjo povečano fagocitno aktivnost proti glivi *Candida albicans*. Alkoholni in vodni izvlečki rastline zavirajo rast nekaterih virusov v celičnih kulturah, npr. virusov influence, herpesa in vezikularnega stomatitisa. Protivnetno delovanje izvlečkov ameriškega slamnika pripisujejo neposrednemu zaviranju hialuronidaze, zaviranju 5-lipookisgenaze in ciklooksigenaze (8,9).

Uporaba izvlečka škrlatnega ameriškega slamnika skrajša trajanje in ublaži simptome prehlada in gripe, zato ga lahko svetujemo za preprečevanje in za zdravljenje prehladnih obolenj. Zabeležili so skrajšanje bakterijske in virusne okužbe zgornjih dihal v povprečju za tri dni (9). Kadar ga vzamemo takoj ob pojavu prvih simptomov, se njihova jakost zmanjša do 40 %, preventivno uživanja pa zmanjša pogostost prehladov do 15 %. Pokazalo se je tudi ugodno delovanje na urogenitalne bolezni kot je prostatitis. Za želeni učinek je izdelke s škrlatnim ameriškim slamnikom priporočljivo jemati vsaj en teden do največ osem tednov (8).

Neželeni učinki se ob uporabi ameriškega slamnika izražajo zelo redko. Lahko se pojavi preobčutljivostna reakcija, ki se kaže kot izpuščaj, srbenje kože, otekel obraz, težko dihanje, vrtoglavica ali znižanje krvnega tlaka. Ob pojavu težav moramo z zdravljenjem prekiniti. Izdelki s škrlatnim ameriškim slamnikom so kontraindicirani pri progresivnih sistemskih boleznih, v nosečnosti in v času dojenja. Previdnost je potrebna pri sočasnem jemanju zdravil, ki se metabolizirajo z encimi iz skupine citokromov P450, saj izvleček ameriškega slamnika nanje deluje zaviralno.

3.2.2 Beta-glukani

Osnovo beta-glukana predstavlja polimer D-glukoze, pri katerem so osnovne monomerne enote povezane v polisaharidno verigo z β -glikozidno vezjo. Beta-glukani delujejo kot imunomodulatorji preko vezave na različne molekule, kot so receptor komplemента 3, laktozilceramid, glikosfingolipid in dektin-1. Receptorji komplemента 3 se nahajajo na monocitih, makrofagih, nevtrofilcih, celicah ubijalkah in dendritičnih celicah. Udeleženi so pri adhezivnih in citotoksičnih funkcijah, ki so odvisne od njihove sposobnosti vezave ligandov. Ob vezavi beta-glukana na te receptorje pride do povečanega citotoksičnega in fagocitnega odziva levkocitov. Poveča se izločanje interleukinov, TNF in mediatorjev vnetja (dušikov oksid, vodikov peroksid). Tako se izrazijo imunomodulatorne in protitumorne lastnosti teh naravnih polisaharidov (8, 10).

V naravi se beta-glukani nahajajo v ovsu, ječmenu, v celičnih stenah nekaterih patogenov (*Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans* in *Saccharomyces cerevisiae*) in v gobah. Največ podatkov najdemo o imunomodulatornih in protitumornih učinkih beta-glukanov, kot sta lentinan iz užitnega nazobčanca (*Lentinus edodes*) in shizofilan iz navadne cepilistke (*Schizophillum commune*), ki sta na Japonskem v tradicionalni medicini v uporabi od 1980, ter beta-glukanov iz svetlikave pološčenke (*Ganoderma lucidum*) in bukovega ostrigarja (*Pleurotus ostreatus*) (10).

Beta-glukani izkazujejo imunomodulatorne, protivnetne, protibakterijske, protivirusne in protitumorne lastnosti, saj preprečujejo onkogenezo in metastaziranje tumorskih celic. Lahko jih uporabljamo preventivno za izboljšanje imunskega sistema tudi daljši čas, akutno ob prehodnih težavah, ali pa kot podporno terapijo kemoterapiji in radioterapiji ob zdravljenju raka. Raziskave so potrdile manjšo pojavnost respiratornih okužb oziroma skrajšanje njihovega trajanja ob preventivnem uživanju beta-glukanov. Ob daljšem uživanju so zasledili tudi znižanje krvnega sladkorja, znižanje krvnega tlaka, zmanjšanje vrednosti krvnih maščob, hitrejše celjenje ran in manjše število evidentiranih zapletov pri kroničnih avtoimunih boleznih. Opazili so tudi hitrejšo regeneracijo po povečanem psihofizičnem naporu pri profesionalnih športnikih (10, 11).

3.3 Probiotiki

Človeška mikroflora je skupnost simbiotskih in patogenih bakterij, glivic in arhej, ki jih najdemo v človeškem telesu in na koži. Gastrointestinalna flora se nahaja na površini 250-400 m² gastrointestinalnega trakta (GIT) in je sestavljena iz več kot 1000 različnih vrst mikroorganizmov. Najpogostejši rodovi so *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Escherichia* in *Saccharomyces*. Glavne naloge gastrointestinalne flore lahko razdelimo v:

- (i) metabolične, saj skrbijo za fermentacijo neprebavljenih ostankov hrane in endogene sluzi,
- (ii) trofične, saj mikroorganizmi vzdržujejo homeostazo epitelnih celic in celic imunskega sistema (ocenjujejo, da se 70 % vseh imunokompetentnih celic nahaja ravno v GIT) in
- (iii) protektivne, saj tvorijo zaščitno plast pred patogenimi mikroorganizmi (12, 13).

Na razvoj zdrave mikrobiote imajo vpliv prehrana in mikroflora mame in očeta pred spočetjem, prehrana mame med nosečnostjo in dojenjem, okolje, antibiotična zdravljenja, intenzivna zdravljenja takoj ob rojstvu in kvaliteta hrane v zgodnjem otroštvu in pozneje.

Učinkovit probiotik je vrstno in humano specifičen, mora dobro prehajati GIT in biti odporen na prebavne encime, želodčno kislino in peristaltiko. Po prehodu GIT mora uspešno kolonizirati kolon in izkazovati želeno delovanje. Prav tako je pomembna varnost, kar dosežemo z izborom genetsko stabilnih sevov, sevov z antibiotično rezistenco in primerno invazivnostjo (12).

Probiotiki se največkrat uporabljajo za preprečevanje in zdravljenje akutnih drisk ter pri okužbah sečil in rodil. Novejše raziskave kažejo na njihov potencial pri zdravljenju alergij in pri kroničnih vnetnih boleznih GIT (kronično vnetna bolezen črevesja, ulcerozni kolitis, pavčitis, Crohnova bolezen, sindrom razdražljivega črevesa) (13). Pomembno je, da pri preprečevanju in zdravljenju določenih bolezni posežemo po probiotičnih sevih, ki imajo dokazno specifično delovanje. Tako sta za zdravljenje in preprečevanje akutnih drisk najbolj raziskana *L. rhamnosus GG (LGG)* in *S. boulardii*, pri preprečevanju respiratornih obolenj pri majhnih otrocih *LGG*, pri pavčitisu kombinacija različnih sevov *VSL#3*, pri nadziranju Crohnove bolezni *E. coli*, *Nissle*, *S. boulardii* in *LGG*, pri zdravljenju in preprečevanju atopijskih alergij *LGG* in *B. lactis*, pri vaginitisih *L. acidophilus*, *L. rhamnosus GR-1* in *L. reuteri RC14*, pri obolenjih jeter *VSL#3*, *LGG* ali kombinacije sevov *L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *B. bifidum*, *S. thermophilus* in *B. longum* (14,15).

Vseh navedenih sevov v slovenskih lekarnah nimamo na voljo, je pa pestrost probiotičnih izdelkov vse večja. Pri svetovanju moramo biti previdni in preveriti vsebnost izdelkov tako kvalitativno kot kvantitativno, saj bo le zadostno število primernih probiotikov lahko uspešno naselilo kolon in izkazalo želene lastnosti.

4 SKLEP

Ob vsakodnevni poplavi izdelkov za samozdravljenje imunske pomanjkljivosti in ob želji za aktivno, zdravo in dolgo življenje, moramo v lekarnah prevzeti odgovornost za vestno in strokovno svetovanje. Med ponujenimi izberimo strokovno podprte izdelke. Ne pozabimo na razlike med našimi obiskovalci in jih povprašajmo o podrobnostih glede njihovega zdravstvenega stanja in počutja. Naj naše delo ne postane le rutina izdajanja zdravil na recepte in prodajanje ostalih izdelkov. Velikokrat sta za boljši imunski odziv pomembna tudi naš nasmeh in zanimanje za sogovornika. Mogoče v prihodnje tudi ta dejavnik znanstveniki strokovno raziščejo in ocenijo.

5 LITERATURA

1. Pisk N., Tršinar M., Mrhar A. (ur.): Samozdravljenje – priročnik za bolnike. SFD, 2011: 363-372.
2. Priročnik za svetovanje pri samozdravljenju. Izdelki za samozdravljenje 2016-2017. FarmAsist d.o.o. 2017: 42.
3. Baza podatkov o registriranih zdravilih: www.cbz.si. Dostopno: april 2017.
4. Centralna baza zdravil. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Plivit C. [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/7FB6251AABC1BA03C12579C2003F5081/\\$File/s-012718.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/7FB6251AABC1BA03C12579C2003F5081/$File/s-012718.pdf). Datum dostopa: 15.04.2017.

5. Centralna baza zdravil. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Ca-C Calvive 260 mg/1000 mg šumeče tablete. [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/9F49B9054983E5C2C12579C2003F60D2/\\$File/s-0653.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/9F49B9054983E5C2C12579C2003F60D2/$File/s-0653.pdf). Datum dostopa: 15.04.2017.
6. Centralna baza zdravil. Povzetek glavnih značilnosti zdravila Fidi koencim 10 mehke kapsule. [http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/35DE6847F12C1CCDC12579C2003F60A3/\\$File/s-0571.pdf](http://www.cbz.si/cbz/bazazdr2.nsf/o/35DE6847F12C1CCDC12579C2003F60A3/$File/s-0571.pdf). Datum dostopa: 15.04.2017.
7. Fidimed. Imunski sistem in vloga aminokislin. https://fidimed.si/strokovni_clanki/odpornost/86/imunski_sistem_in_vloga_aminokislin/. Datum dostopa: 15.04.2017.
8. Kreft S., Kočevar Glavač N. (ur.): Sodobna fitoterapija-z dokazi podprta uporaba zdravilnih rastlin. SFD, 2013:72-87, 630-687.
9. Block IK, Mead NM. Immune System Effects of Echinacea, Ginseng and Astragalus. Integrative cancer theraies 2003; 2(3): 247-267.
10. Akramienė D, Kondrotas A, Didžiapetrienė J, Kėvelaitis E. Effects of β -glucans on the immune system. Medicina (Kaunas) 2007; 43(8): 597-606.
11. Batovsky M, Zamborsky T, Radwan K, Desatova B, Kadleckova B. Beta-(1,3/1,6)-D-glucan helps to decrease opportunistic infections in Crohn's disease patients treated with biological therapy. Arch Clin Gastroenterol 2015; 1 (1): 005-008.
12. Surawicz MC. Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile diarrhoea in humans. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 2003; 17: 775-783.
13. Mičetić Turk D., Šikić Pogačar M. Dokazi o učinkovitosti probiotičnih sevov in njihova uporaba v klinični praksi. Probiotiki - Zbornik znanstveno-strokovnih prispevkov. Lek farmacevtska družba d.d., 2014.
14. Floch et al. Recommendations for probiotic use—2015 update proceedings and consensus opinion. J Clin Gastroenterol 2015; 49 (1): 69-73.
15. Hojsak et al. Lactobacillus GG in the prevention of gastrointestinal and respiratory tract infections in children who attend day care centers: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clinical Nutrition 2010; 29: 312–316.

Cepiva, živo srebro in avtizem? Razkritje in razblinjenje zloglasnega mita na znanstveni osnovi!

izr. prof. dr. Žiga Jakopin, mag. farm.

Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani

Povzetek

Kontroverznost glede uporabe živosrebrovega konzervansa tiomersala v cepivih za otroke v zadnjem času vzbuja vse več vprašanj, ki jih je potrebno ustrezno nasloviti. Zakaj so začeli v cepiva vgrajevati ta konzervans? Ali obstaja kakšen dokaz, da tiomersal ljudem škoduje? In nenazadnje, kako so cepiva s tiomersalom in cepivo proti ošpicam, mumpsu in rdečkam sploh začeli povezovati z avtizmom? Da bi prišli do bistva tega problema in ga ustrezno razrešili, pa je potrebno raziskati ozadje treh neodvisnih dejavnikov oziroma več vidikov, ki tvorijo omenjeni mit, in sicer: sestava cepiv, toksičnost živega srebra in avtizem.

Vsebina

- 1 UVOD
- 2 RAZVOJ ŽIVOSREBROVEGA KONZERVANSA TIOMERSALA SKOZI ČAS
- 3 CEPIVA IN OBVEZNA CEPLJENJA
 - 3.1 Sestava cepiv
 - 3.2 Stranski in neželeni učinki cepiv
 - 3.3 Program obveznega cepljenja v Republiki Sloveniji
- 4 VIDIK TOKSIČNOSTI: PRIMERJAVA ETIL IN METIL ŽIVEGA SREBRA
 - 4.1 Toksičnost metil in etil živega srebra
 - 4.2 Izračun vrednosti/mej varne izpostavljenosti
- 5 AVTIZEM
 - 5.1 Povod za povezavo med cepivi in avtizmom
- 6 NAPAD NA TIOMERSAL
 - 6.1 Ocena tveganja za tiomersal
 - 6.2 Finančna plat gonje proti tiomersalu
 - 6.3 Odsotnost učinka tiomersal-vsebujočih cepiv in cepiva MMR na razvoj avtizma
- 7 SKLEP
- 8 LITERATURA

1 UVOD

Kljub zagotovitom uglednih znanstvenih in zdravstvenih institucij ter raziskavam, ki pričajo o varnosti cepiv za otroke, jim številni starši ne zaupajo in ostro nasprotujejo stališču stroke, saj smatrajo, da cepiva povzročajo motnje imunskega sistema, hiperaktivnost in avtizem. Še posebej so oziroma so bila na udaru cepiva, ki so vsebovala živosrebrov konzervans tiomersal in cepivo proti ošpicam, mumpsu in rdečkam (cepivo MMR), ki sicer nikoli ni vsebovalo tiomersala. K temu so največ pripomogli že zbledeli kolektivni spomini na nekatere včasih dokaj pogoste otroške bolezni, negativne informacije, ki krožijo v medijih, dezinformacije in laži, prisotne na spletu in sproženi pravdni postopki proti proizvajalcem cepiv (1, 2). Zaradi tega je tako v Sloveniji kot tudi v nekaterih drugih zahodnih državah prišlo do porasta števila necepljenih otrok, kar se v zadnjem času kaže v izbruhih nekaterih, že skoraj izkoreninjenih bolezni. Kakršnakoli neželena reakcija po cepljenju starše le še hitreje odvrne od nadaljevanja, pri čemer pa ne le, da tvegajo, da bo njihov otrok zbolel za eno izmed nalezljivih bolezni, temveč s tem ogrožajo tudi tiste, ki se iz zdravstvenih razlogov ne morejo cepiti in se zanašajo le na učinek kolektivne imunosti. V Evropi so laiki zagnali preplah predvsem proti cepivu MMR, medtem ko so se v Združenih državah usmerili na problematiko živosrebrovih konzervansov (2). V tem prispevku bomo raziskali, kaj leži v ozadju tega problema, kaj je bil povod za gonjo proti živosrebrovim konzervansom in cepivu MMR in kako ter zakaj je laična javnost avtizem začela povezovati z omenjenimi cepivi.

2 RAZVOJ ŽIVOSREBROVEGA KONZERVANSA TIOMERSALA SKOZI ČAS

Da bi razumeli, zakaj so živosrebrove spojine začeli vgrajevati v cepiva, je potreben skok v zgodovino, v predantibiotično ero, ko so anorganske živosrebrove spojine uporabljali kot antiseptike (3). V začetku 20. stoletja so nato odkrili organoživosrebrove spojine, od katerih je še posebej izstopal tiomersal. Gre za spojino, ki vsebuje 49,6 masnih % Hg in se v telesu metabolizira do etil živega srebra in tiosalicilne kisline. Ugotovili so, da je tiomersal izredno učinkovito protibakterijsko sredstvo (4), in da ga ljudje dobro tolerirajo tudi pri zelo visokih odmerkih (5). V zgodnjem 20. stoletju je mikrobiološka kontaminacija večodmernih vial cepiv predstavljala enega izmed ključnih problemov otroških cepljenj, saj so bili opisani številni smrtni primeri zaradi množičnih zastrupitev. To je pripeljalo do nujne potrebe po uporabi novih konzervansov, saj fenol in krezol preprosto nista zadostovala. V tem kontekstu je tiomersal predstavljal čudežno rešitev, saj je že pri izredno nizkih koncentracijah (<0,01%) izkazal dobro protibakterijsko delovanje in dobro toleranco, zato so ga do leta 1940 vgrajevali v številna cepiva (6). Tekom naslednjih desetletij tiomersal ni izgubljal na pomenu, zgolj v enem primeru so ugotovili, da je oslabil imunogenost cepiva, kar se je izkazalo kot izjema. Kasneje so ugotovili, da tiomersal pri nekaterih posameznikih lahko povzroča preobčutljivostne reakcije (7, 8), čemur pa niso pripisali posebnega pomena in je obveljal konsenz, da je tiomersal pri nizkih koncentracijah varen in učinkovit. Šele v 70-ih so se začela pojavljati vprašanja o varnosti tiomersala, saj so se začeli zavedati toksičnosti nekaterih živosrebrovih spojin, zlasti metil živega srebra, znanega industrijskega onesnažila, ki se pogosto uporablja v prehranski industriji. Ko so začeli proučevati toksični potencial etil živega srebra, so ugotovili, da sicer lahko deluje nevrotoksično, vendar šele pri odmerkih, ki za več velikostnih razredov presegajo izpostavljenost odmerkom iz cepiv (9). Cepiva so takrat vsebovala okoli 0,01% tiomersala, kar znaša približno 50 mikrogramov tiomersala oziroma 25

mikrogramov živega srebra na odmerek (0,5 mL). Pri FDA (Food and Drug Administration) so zato zaključili, da s cepljenjem nismo izpostavljeni nevarnim količinam živega srebra.

3 CEPIVA IN OBVEZNA CEPLJENJA

3.1 Sestava cepiv

Cepivo je običajno sestavljeno iz aktivnega agensa – oslabljenega ali mrtvega povzročitelja (ali segment DNA), po potrebi spremenjenega s tehnologijo rekombinantne DNA – ter pomožnih snovi, kot so konzervansi, stabilizatorji in adjuvansi, ki zagotavljajo stabilnost, varnost in učinkovitost cepiva (10). Adjuvansi se uporabljajo predvsem v mrtvih cepivih, saj povečajo imunski odziv in tako omogočajo izpostavljenost manjšemu številu delcev virusov/bakterij. Trenutno so v klinični uporabi le trije adjuvansi, in sicer aluminijeve soli, skvalen in monofosforil lipid A.

3.2 Stranski in neželeni učinki cepiv

Najpogostejši stranski učinki po rutinskem cepljenju nastopijo na mestu aplikacije, in sicer kot lokalna bolečina, eritem in edem, ki so posledica nespecifične stimulacije imunskega sistema (10). Cepiva lahko sicer zaradi vsebovanih sestavin, kot so jajčni proteini, želatina, proteini kvasovk, v manjši meri pa tudi antibiotiki, povzročijo preobčutljivostne reakcije, a je incidenca zelo nizka (1-2 na 1 milijon odmerkov). V primeru, ko cepiva vsebujejo želatino ali ovalbumin, ali v kolikor je prisoten lateks kot kontaminant, je incidenca nekoliko višja (10). Najhujši možen zaplet sicer predstavlja anafilaktična reakcija z incidenco 1 na 10 milijonov odmerkov. Nekateri so cepiva povezovali tudi z incidenco drugih nevroloških bolezni, kot sta multipla skleroza in sindrom Guillain-Barré, in avtoimunskimi boleznimi, med katere sodijo diabetes tipa I, revmatoidni artritis in vnetna črevesna bolezen, vendar so se te povezave v veliki večini izkazale kot neosnovane (10-12). Logično je, da lahko cepiva, tako kot vsa ostala zdravila povzročijo neželene učinke, a načeloma velja, da korist za pacienta vedno odtehta morebitno minimalno tveganje.

3.3 Program obveznega cepljenja v Republiki Sloveniji

V Republiki Sloveniji zdravstveni sistem omogoča brezplačno cepljenje proti številnim boleznim. Obvezno cepljenje otrok (dojenčkov) se začne v tretjem mesecu starosti, ko so le-ti cepljeni proti davici, tetanusu, oslovskemu kašlju, *Haemophilus influenzae* tipa B ter otroški paralizi. Nato so po dopolnjenem prvem letu starosti cepljeni še proti ošpicam, mumpsu in rdečkam (cepivo MMR), pred začetkom osnovne šole pa še proti hepatitisu B. Dandanes se zdravniki velikokrat srečujejo z odklonitvijo obveznega cepljenja, kar je prekršek po Zakonu o nalezljivih boleznih in ga je zdravnik dolžan prijaviti na Zdravstveni inšpektorat Republike Slovenije. Sodobna medicina je sicer sposobna pozdraviti bolezni, ki se jih v večji meri preprečuje s cepljenjem, vendar so posledice prebolevanja in zdravljenja neprimerno hujše v primerjavi s potencialnimi negativnimi (neželenimi) učinki cepljenja. Nenazadnje so tudi stroški takšnega zdravljenja občutno višji od stroškov cepljenja, zato je odklonitev cepljenja neupravičena tudi iz ekonomskega vidika. Vsako cepivo pa je seveda klinično preizkušeno in dokazano kot kakovostno, učinkovito in varno in kot tako koristno ne le za dobrobit cepljenega posameznika temveč tudi za vzpostavitev kolektivne odpornosti proti bolezni v

populaciji (t.i. kolektivne imunosti, če je dosežena vsaj 95% precepljenost). Slednja omejuje širjenje patogenov in na ta način varuje pred okužbo tiste, ki s cepljenjem še niso pridobili odpornosti oziroma se zaradi različnih razlogov niso smeli cepiti (alergija na sestavine cepiva, resen neželeni učinek ali s cepljenjem nezdružljiva bolezen; npr. posamezniki z boleznimi imunskega sistema).

4 VIDIK TOKSIČNOSTI: PRIMERJAVA ETIL IN METIL ŽIVEGA SREBRA

4.1 Toksičnost metil in etil živega srebra

Za anorgansko živo srebro je znanost nedvoumno dokazala, da je toksično, in da v dovolj visokih odmerkih povzroči nevrološke in nefrološke poškodbe. Kljub dokazom o varnosti etil živega srebra, pa so to prepričanje omajale raziskave o toksičnosti organskega živega srebra za zarodek in majhne otroke. Kot najbolj problematična oblika organskega živega srebra je veljalo metil živo srebro, saj so ugotovili, da lahko povzroča številne nevrološke motnje tudi pri izpostavljenosti *in utero* (incident v zalivu Minamata) (13), hkrati pa se v znatnih količinah pojavlja v prehranjevalni verigi, še posebej v ribah. To je bil povod za številne razprave tudi o toksičnosti etil živega srebra, ki je po strukturi zelo podobno metil živemu srebru. Spojini se razlikujeta le po eni metilni skupini v stranski verigi, a vendar ta razlika še zdaleč ni tako majhna kot bi mislili, saj se spojini posledično močno razlikujeta v distribuciji, metabolizmu in eliminaciji. Lep primer analogije ponazarja razlika v toksičnosti med netoksičnim etanolom in smrtno nevarnim metanolom. Za metil živo srebro so dokazali, da povzroča nevrološke poškodbe in poškodbe ledvic, hkrati pa se lahko kopiči v možganih in ima dolgo razpolovno dobo (14, 15). Etil živo srebro se na drugi strani veliko hitreje izloči iz telesa in se v njem ne kopiči, kar so pokazali tako s študijami na živalih kot tudi ljudeh (14-18). Tako so Magos kot tudi Dorrea in sodelavci neposredno primerjali toksičnost metil in etil živega srebra na podganah in prišli do ugotovitve, da je slednje občutno manj nevrotoksično (19, 20). Metil živo srebro se lahko za razliko od etil živega srebra preko hematoencefalne bariere transportira z aktivnim transportom (21), kar še poveča verjetnost za povzročitev nevroloških motenj (22).

4.2 Izračun vrednosti/mej varne izpostavljenosti

Na osnovi dokumentiranih zdravstvenih zapletov, povzročenih z metil živim srebrom, so pri FDA zanj predlagali vrednost ADI (acceptable daily intake) 0,4 µg/kg telesne mase / dan za odrasle. Kot bolj zahtevno se je izkazalo določanje varne izpostavljenosti za zarodek in novorojence, pri čemer so si pomagali z rezultati dostopnih epidemioloških študij (23). Vse to je privedlo do dodatne zmede pri postavljanju varne izpostavljenosti metil živemu srebru. Pri EPA-i (Environmental Protection Agency) so leta 1994 postavili referenčno mejo 0,1 µg/kg telesne mase/dan, medtem ko so pri ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) mejo postavili pri 0,3 µg/kg telesne mase/dan. Avtizem je v diskurz vstopil šele leta 1999 in v zgodbo vpeljal novo spremenljivko.

5 AVTIZEM

Avtistična motnja (»autism spectrum disorder«) je genetska bolezen, pri kateri gre za spekter motenj, katerih izvor je predvsem biološke narave. Za to bolezen ni na voljo diskretnih fizičnih, bioloških ali genetskih označevalcev, na katerih bi lahko osnovali diagnozo, zato je le-ta subjektivna in bazira na prisotnosti ali odsotnosti vedenjskih motenj. Zdravljenje je predvsem rehabilitacijsko in je najbolj uspešno v primeru zgodnje intervencije. Porast diagnoz avtizma med otroci v 90-ih letih prejšnjega stoletja je več kot pričakovan in je delno logična posledica vedno širše definicije avtizma in hkratne večje pozornosti javnosti na tovrstne motnje (24). Potrebno se je zavedati tudi dejstva, da se avtizem diagnosticira približno v istem časovnem obdobju, ko poteka cepljenje proti mumpsu, rdečkam in ošpicam.

5.1 Povod za povezavo med cepivi in avtizmom

Omenjeni porast diagnoz avtizma je v končni fazi povzročil, da so se starši avtističnih otrok začeli združevati v skupnosti in začeli raziskovati izvore avtizma kar preko spleta ter iskati pregovornega grešnega kozla. Vzporedno so bile ustanovljene tudi večje organizacije in instituti (San Diego Autism Research Institute), ki so promovirali alternativne pristope in opozarjali, da vzrok avtizma ni le biološke narave, temveč je tudi posledica okoljskih dejavnikov. Ena izmed spletnih alternativnih teorij je slonela na predpostavki, da je avtizem posledica motenj v prepustnosti gastrointestinalnega trakta, kar omogoči olajšan dostop gastrointestinalnih toksinov v sistem in povzroči motnje živčnega sistema (t.i. »sindrom prepustnega črevesa«). Teorije, da tiomersal vsebujoča cepiva in cepiva MMR povzročajo avtizem, niso predpostavili znanstveniki temveč skupnost laikov, še zlasti staršev in skrbnikov avtističnih otrok ter tudi nekaterih njihovih zdravnikov.

V letu 1998 je britanski gastroenterolog Wakefield na osnovi ponarejenih in prirejenih rezultatov na majhni skupini 12 pacientov predpostavil povezavo med »sindromom prepustnega črevesa« in avtizmom kot posledico cepljenja s cepivom MMR, ki sicer ni nikoli vsebovalo tiomersala, in to objavil v priznani reviji The Lancet (25). Raziskovalni novinar časopisa Sunday Times Brian Deer je kmalu razkril dejanski obseg Wakefieldove prevare (26). Paciente je Wakefield rekrutiral s pomočjo »proticepitvenih« kampanj in vsaj 5 od 12 pacientov je bilo že pred sodelovanjem v raziskavi vključenih v tožbe proti proizvajalcem cepiv. Ugotovil je, da je Wakefield ne samo priredil, temveč tudi ponaredil številne podatke iz zdravniških anamnez preiskovanih pacientov. Vse to je naredil v zameno za plačilo približno pol milijona evrov, ki mu jih je nakazal odvetnik, ki je potreboval »znanstveno« podlago za svojo tožbo (27). Soavtorji omenjenega članka so že leta 2004 zahtevali, da se le-ta umakne, a so se v reviji Lancet dokaj pozno odzvali in šele leta 2010 Wakefieldov članek umaknili, zdravniška zbornica pa mu je odvzela tudi licenco (28). Kljub temu, da so številne epidemiološke študije izvedene v različnih okoljih in na velikih populacijah ovrgle kakršnokoli vzročno povezavo med avtizmom in cepljenjem s cepivom MMR (29-43), pa so prej omenjene skupnosti staršev pograbile to neosnovano teorijo in jo s pomočjo spleta začele nezadržno širiti. Kot neposredna posledica takšnih teorij in Wakefieldove objave je precepljenost populacije v letih 2003/2004 v Veliki Britaniji padla na 82%, kar je pripeljalo do številnih izbruhov ošpic in mumpsa (44).

6 NAPAD NA TIOMERSAL

6.1 Ocena tveganja za tiomersal

Leta 1998 se je FDA lotila ponovne ocene tveganja tiomersala v cepivih, saj so ga potencialno vsebovala vsaj tri od rutinsko uporabljenih cepiv (cepivo proti davici, tetanusu in oslovskemu kašlju, cepivo proti *Haemophilus influenzae* tipa B in cepivo proti hepatitisu B). Na podlagi kumulativne izpostavljenosti so znanstveniki izračunali, da je še varna izpostavljenost dojenčkov v obdobju prvih 6 mesecev do 187,5 mikrogramov etil živega srebra. Ker za etil živo srebro niso imeli podatkov o meji varne izpostavljenosti, so uporabili kar podatke za metil živo srebro in ugotovili, da izpostavljenost presega mejo, ki jo je postavila EPA. Čeprav niso našli in predložili nobenega dokaza, da tiomersal kot konzervans v cepivih deluje toksično, so svetovali, da se ga čimprej odstrani iz cepiv (45). Proizvajalci so se nemudoma odzvali in ga do 2001 odstranili iz vseh cepiv za otroke. Tiomersal se sicer še lahko pojavlja v sledovih v nekaterih cepivih proti gripi, a v kar 50-krat nižjih koncentracijah.

6.2 Finančna plat gonje proti tiomersalu

Dodatno je polemiko razplamtel Mark Blaxill, predstavnik neprofitne organizacije, ki je raziskovala toksične učinke po izpostavljenosti živemu srebru, ki je primerjal ocenjene kumulativne odmerke tiomersala z oceno prevalence avtizma v Kaliforniji in odkril skoraj popolno korelacijo (46). Vendar pa ni upošteval, da v znanosti korelacija še zdaleč ne pomeni vzročnosti. Dejstvo je, da se številni simptomi avtizma izrazijo šele med 12 in 18 mesecem starosti, kar sovпада tudi z obdobjem različnih cepljenj, zaradi česar so napačno sklepali na vzročno povezavo. Če bi cepljenja potekala pri četrtem letu starosti, verjetno nihče ne bi pomislil na soodvisnost cepljenja in pojava avtizma. Vse to pa ni ostalo neopaženo s strani skupnosti staršev avtističnih otrok, saj so začeli po spletu in knjižnicah intenzivno raziskovati toksičnost živega srebra, kar je privedlo celo do objave v reviji *Medical Hypotheses* (47). Slednja je še dodatno pripomogla k legitimizaciji hipoteze in povzročila efekt snežne kepe, saj je polemika prestopila tudi politični prag. Skupina mater, imenovana »Mercury moms« je ustanovila organizacijo »Safe Minds«, ki je začela pritiskati na politike. Vse to je privedlo do hude polarizacije družbe in vprašanja zaupanja, pri čemer so bili na eni strani zdravniki in znanstveniki, ki so se zanašali na podatke iz znanstvenih študij, na drugi strani pa goreči nasprotniki cepiv, ki so te študije zavračali, saj naj bi bile manipulirane iz političnih razlogov. Na tem mestu so se v problematiko vključili tudi odvetniki, ki so iz dane situacije predvideli donosen posel in začeli na veliko oglaševati svoje storitve, kar je le še dodatno povečalo oziroma poglobilo polarizacijo. Leta 2007 je skoraj 5.000 staršev avtističnih otrok vložilo tožbo proti vladi ZDA, slonečo na trditvah, da so otroška cepiva povzročila avtizem (46).

6.3 Odsotnost učinka tiomersal-vsebujočih cepiv in cepiva MMR na razvoj avtizma

Ob vsem navedenem pa je zanimiv še en podatek, ki so ga mnogi spregledali, namreč število avtističnih otrok od leta 2001 ostaja v porastu, kljub odsotnosti tiomersala v cepivih (41, 48). Tem ugotovitvam sicer nekateri nasprotujejo in utemeljujejo svoje trditve na podatkih pridobljenih iz spletne baze podatkov VAERS (Vaccine Adverse Events Reporting System), v katero pa lahko vnašajo informacije prav vsi, od staršev, zdravnikov do naključnih laikov. Informacije tudi niso preverjene, zaradi česar je takšne podatke potrebno jemati z rezervo

(*cum grano salis*) (49). Avtorji slednje študije so tudi lastniki pravne firme, ki pomaga ljudem, ki naj bi bili oškodovani zaradi cepiv, kar jasno govori o konfliktu interesov (46). Organizacija »Safe Minds« je sofinancirala tudi raziskavo nevrotoksičnih učinkov cepiv s tiomersalom in cepiva MMR (brez tiomersala) na opicah, ki pa je le potrdila obstoječe podatke, in sicer, da nobeno od preizkušenih cepiv ni nevrotoksično, s čimer se je njihov načrt izjalovil (50).

7 SKLEP

Na spletu so se pojavile številne pavšalne navedbe in insinuacije, da so tiomersal v cepiva začele vgrajevati zlonamerne farmacevtske firme, ki jim gre le za dobiček in ne za dobrobit otrok. Domnevne bajne zasluške hitro na laž postavi že podatek, da je eno cepivo cenejše od stekleničke antibiotičnega sirupa (cca 50 evrov). Pri tem so pozabili tudi, da je bil tiomersal vključen v dolgoletne raziskave s ciljem izboljšati učinkovitost in varnost cepiv, in da se je v praksi skozi leta tudi odlično izkazal. Dodaten problem predstavlja dejstvo, da laična javnost posplošuje vse, kar je povezano z živim srebrom. Kot smo že povedali, se lastnosti različnih živosrebrovih spojin lahko zelo razlikujejo, a v javnem diskurzu se vse te spojine prepogosto postavi na skupni imenovalce »živo srebro« in to kljub temu, da so raziskave Picichera in sodelavcev jasno pokazale, da med avtističnimi in zdravimi otroci ni razlik v zaužitih koncentracijah živega srebra (16). Ker so slepo verjeli v hipotezo o »zastrupitvi z živim srebrom«, so nekateri starši začeli svoje otroke zdraviti z nepreverjenimi in nenadzorovanimi kelacijskimi terapijami, kar je privedlo tudi do nekaterih smrtnih primerov (51). Znanstvena stroka je sicer resno vzela in preučila potencialne povezave med cepivi in avtizmom. Pri tem pa je najbolj pomembno, da so številne dobro zasnovane študije, ki so jih izvedle neodvisne institucije, dokazale, da niti cepivo proti MMR niti tiomersal-vsebujoča cepiva ne povečajo tveganja za nastanek avtistične motnje (52, 53). Pri vsem tem je najbolj žalostno, da so bile številne ure raziskovalcev in davkoplačevalski denar porabljeni za dokazovanje neresničnosti »urbane legende«, osnovane na namigovanju in lažeh. Za konec je potrebno še enkrat poudariti, da so koristi, ki jih tako za posameznega pacienta kot za celotno populacijo prinašajo cepiva, neprecenljive, zato je dolžnost vsakega posameznika, da ravna preudarno in izključno v skladu z nasveti zdravniške stroke in ne kakšnega nepreverjenega spletnega foruma oziroma »televizijskega zdravnika«.

8 LITERATURA

1. Colgrove J, Bayer R. Could it happen here? Vaccine risk controversies and the specter of derailment. *Health Aff* 2005; 24: 729–739.
2. Baker JP. Mercury, vaccines, and autism. One controversy, three histories. *Am J Public Health* 2008; 98: 244–253.
3. Brewer JH. Mercurials as antiseptics. *Ann NY Acad Sci* 1950; 53: 211–219.
4. Powell HM, Jamieson WA. Merthiolate as a germicide. *Am J Hyg* 1931; 13: 296–310.
5. Smithburn KC, Kempf GE, Zervas LG, Gilman LH. Meningococcic meningitis: a clinical study of one hundred and forty-four cases. *JAMA* 1930; 95: 776–780.
6. Jamieson WA, Powell HM. Merthiolate as a preservative for biological products. *Am J Hyg* 1931; 14: 218–224.
7. Cox NH, Forsyth A. Thimerosal allergy and vaccination reactions. *Contact Dermatitis* 1988; 18: 229–233.
8. Goncalo M, Figueiredo A, Goncalo S. Hypersensitivity to thimerosal: the sensitivity moiety. *Contact Dermatitis* 1996; 34: 201–203.

9. Fagan DG, Pritchard JS, Clarkson TW, Greenwood MR. Organ mercury levels in infants with omphaloceles treated with organic mercurial antiseptic. *Arch Dis Child* 1977; 52: 962–964.
10. Fritsche PJ, Helbling A, Ballmer-Weber BK. Vaccine hypersensitivity – update and overview. *Swiss Med Wkly* 2010; 140: 238–246.
11. Bardage C, Persson I, Örtquist Å, Bergman U, Ludvigsson JF, Granath F. Neurological and autoimmune disorders after vaccination against pandemic influenza A (H1N1) with a monovalent adjuvanted vaccine: population based cohort study in Stockholm, Sweden. *BMJ* 2011; 343:d5956.
12. Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence? *Lancet* 2003; 362: 1659–1666.
13. Harada M. Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution. *Crit Rev Toxicol* 1995; 25: 1–24.
14. Burbacher TM, Shen DD, Liberato N, Grant KS, Cernichiari E, Clarkson T. Comparison of blood and brain mercury levels in infant monkeys exposed to methylmercury or vaccines containing thimerosal. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 1015–1021.
15. Rodrigues JL, Serpeloni JM, Batista BL, Souza SS, Barbosa Jr F. Identification and distribution of mercury species in rat tissues following administration of thimerosal or methylmercury. *Arch Toxicol* 2010; 84: 891–896.
16. Picichero ME, Cernichiari E, Lopreiato J, Treanor J. Mercury concentrations and metabolism in infants receiving vaccines containing thimerosal: a descriptive study. *Lancet* 2002; 360: 1737–1741.
17. Hornos Carneiro MF, Oliveira Souza JM, Grotto D, Batista BL, de Oliveira Souza VC, Barbosa Jr F. A systematic study of the disposition and metabolism of mercury species in mice after exposure to low levels of thimerosal (ethylmercury). *Environ Res* 2014; 134: 218–227.
18. Barregard L, Rekić D, Horvat M, Elmerberg L, Lundh T, Zachrisson O. Toxicokinetics of mercury after long-term repeated exposure to thimerosal-containing vaccine. *Tox Sci* 2011; 120: 499–506.
19. Magos L, Brown AW, Sparrow S, Bailey E, Snowden RT, Skipp WR. The comparative toxicology of ethyl- and methylmercury. *Arch Toxicol* 1985; 57: 260–267.
20. Dórea JG, Farina M, Rocha JBT. Toxicity of ethylmercury (and thimerosal): a comparison with methylmercury. *J Appl Toxicol* 2013; 33: 700–711.
21. Simmons-Willis TA, Koh AS, Clarkson TW, Ballatori N. Transport of a neurotoxicant by molecular mimicry: the methylmercury–L-cysteine complex is a substrate for human L-type large neutral amino acid transporter (LAT) 1 and LAT2. *Biochem J* 2002; 367: 239–246.
22. Kerper LE, Ballatori N, Clarkson TW. Methylmercury transport across the blood-brain barrier by an amino acid carrier. *Am J Physiol* 1992; 262: R761–R765.
23. Davidson PW, Myers GJ, Cox C, et al. Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles child development study. *JAMA* 1998; 280: 701–707.
24. Fombonne E. Is there an epidemic of autism? *Pediatrics* 2001; 107: 411–413.
25. Wakefield AJ, Murch SH, Anthony A, et al. Ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children [retracted]. *Lancet* 1998; 351: 637–641.
26. Deer B. Revealed: MMR research scandal. *Sunday Times* 2004 February 22.
27. Deer B. Secrets of the MMR scare: how the case against the MMR vaccine was fixed. *BMJ* 2011; 342: c5347.
28. The editors of the *Lancet*. Retraction – ileal-lymphoid-nodular hyperplasia, non-specific colitis, and pervasive developmental disorder in children. *Lancet* 2010; 375: 445.
29. Madsen KM, Hviid A, Vestergaard M, Schendel D, Wohlfahrt J, Thorsen P, et al. A population-based study of measles, mumps, and rubella vaccination and autism. *N Engl J Med* 2002; 347: 1477–1482.
30. Taylor B, Miller E, Farrington CP, Petropoulos MC, Faust-Maya I, et al. Autism and measles, mumps, and rubella vaccine: no epidemiological evidence for a causal association. *Lancet* 1999; 353: 2026–2029.
31. Chen W, Landau S, Sham P, Fombonne E. No evidence for links between autism, MMR and measles virus. *Psychol Med* 2004; 34: 543–553.
32. Smeeth L, Cook C, Fombonne E, Heavey L, Rodrigues LC, Smith PG, et al. MMR vaccination and pervasive developmental disorders: a case-control study. *Lancet* 2004; 364: 963–969.
33. Makela A, Nuorti JP, Petola H. Neurologic disorders after measles-mumps-rubella vaccination. *Pediatrics* 2002; 110: 957–963.
34. Gillberg C, Heijbel H. MMR and autism. *Autism* 1998; 2: 423–424.
35. Dales L, Hammer SJ, Smith NJ. Time trends in autism and MMR immunization coverage in California. *JAMA* 2001; 286: 1183–1185.
36. Honda H, Shimizu Y, Rutter M. No effect of MMR withdrawal on the incidence of autism: a total population study. *J Child Psychol Psychiatry* 2005; 46: 572–579.

37. Fombonne E, Zakarian R, Bennett A, Meng L, McLean-Heywood D. Pervasive developmental disorders in Montreal, Quebec, Canada. Prevalence and link with immunizations. *Pediatrics* 2006; 118: e139–e150.
38. Andrews N, Miller E, Grant A, Stowe J, Osborne V, Taylor B. Thimerosal exposure in infants and developmental disorders: a retrospective cohort study in the United Kingdom does not support a causal association. *Pediatrics* 2004; 114: 584–591.
39. Heron J, Golding J. Thimerosal exposure in infants and developmental disorders: a prospective cohort study in the United Kingdom does not support a causal association. *Pediatrics* 2004; 114: 577–583.
40. Hviid A, Stellfeld M, Wohlfahrt J, Melbye M. Association between thimerosal-containing vaccine and autism. *JAMA* 2003; 290: 1763–1766.
41. Madsen KM, Lauritsen MB, Pedersen CB, Thorsen PB, Plesner AM, Andersen PH, et al. Thimerosal and the occurrence of autism: negative ecological evidence from Danish population-based data. *Pediatrics* 2003; 112: 604–606.
42. Stehr-Green P, Tull P, Stellfeld M, Mortenson PB, Simpson D. Autism and thimerosal-containing vaccines: lack of consistent evidence for an association. *Am J Prev Med* 2003; 25: 101–106.
43. Parker SK, Schwartz B, Todd J, Pickering LK. Thimerosal-containing vaccines and autistic spectrum disorder: a critical review of published original data. *Pediatrics* 2004; 114: 793–804.
44. Godlee F, Smith J, Marcovitch H. Wakefield's article linking MMR vaccine and autism was fraudulent. *BMJ* 2011; 342: c7452.
45. Ball LK, Ball R, Pratt RD. An assessment of thimerosal use in childhood vaccines. *Pediatrics* 2001; 107: 1147–1154.
46. Normand M, Dallery J. Mercury rising. Exposing the vaccine-autism myth. *Skeptic* 2007; 13: 32–36.
47. Bernard S, Enyati A, Redwood L, Roger H, Binstock T. Autism: a novel form of mercury poisoning. *Med Hypotheses* 2001; 56: 462–471.
48. Scahill L, Bearss K. The rise in autism and the mercury myth. *J Child Adolesc Psychiatr Nurs* 2009; 22: 51–53.
49. Geier MR, Geier DA. Thimerosal in childhood vaccines, neurodevelopment disorders and heart disease in the United States. *J Am Phys Surg* 2003; 8: 6–11.
50. Gadad BS, Li W, Yazdani U, Grady S, Johnson T, Hammond J, Gunn H, Curtis B, English C, Yutuc V, Ferrier C, Sackett GP, Marti CN, Young K, Hewitson L, German DC. Administration of thimerosal-containing vaccines to infant rhesus macaques does not result in autism-like behavior or neuropathology. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112: 12498–12503.
51. Shannon M, Levy S, Sandler A. Chelation therapy neither safe nor effective as autism treatment. *AAP news* 2001 (August 1): 63.
52. Uno Y, Uchiyama T, Kurosawa M, Aleksic B, Ozaki N. Early exposure to the combined measles-mumps-rubella vaccine and thimerosal-containing vaccines and risk of autism spectrum disorder. *Vaccine* 2015; 33: 2511–2516.
53. Taylor LE, Swerdfeger AL, Eslick GD. Vaccines are not associated with autism: an evidence-based meta-analysis of case-control and cohort studies. *Vaccine* 2014; 32: 3623–3629.