

Tarmens usynlige allierede: Kan gavnlige virusser beskytte mod sygdom hos nyfødte?

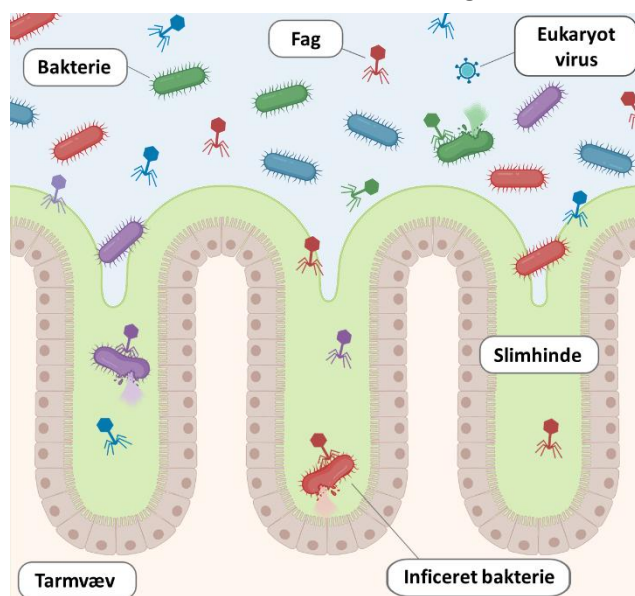
Af Malene Roed Spiegelhauer, Ph.d., M.Sc.

Omkring hvert tiende spædbarn fødes for tidligt, svarende til før graviditetsuge 37. Ved en for tidlig fødsel er den nyfødtes organer endnu ikke fuldt modnede. Den nyfødte har derfor højere risiko for at udvikle en række følgesygdomme, herunder en alvorlig inflammatorisk tarmsygdom – og de mindste børn født længst fra termin, er mest udsat. Tidligere studier i dyremodeller har vist, at overførsel af fæces fra en rask nyfødt donor, som indeholder en sund sammensætning af bakterier og virusser, kan beskytte mod inflammation i tarmen. I mit Ph.d.-projekt undersøgte jeg først virussernes rolle for behandlingens effekt. Derefter tog jeg skridtet videre i et forsøg på at målrette behandlingen for specifikt at ramme bakterier involveret i sygdomsudviklingen.

Vores tarm indeholder milliarder af mikrober

Tilsammen kaldes det vores *tarmmikrobiom*, og en stor del af disse udgøres af gavnlige bakterier, der hjælper med at nedbryde ufordøjet mad til næringsstoffer og vitaminer. Nogle bakterier kan dog bevæge sig igennem slimhindelaget og gøre os syge ved at forstyrre tarmens celler. Udover bakterier indeholder tarmen også virusser, som samlet kaldes for vores *virom*. Viromet i vores tarm er enormt, og et voksent menneske har omkring 10^{10} (altså 10 milliarder!) viruspartikler per gram fæces. Når man hører ordet "virus" vil mange sikkert tænke på eukaryote virusser, der gør os syge – som influenza, coronavirus, eller forkølelse. Men kun en meget lille portion af vores virom består af virusser, der kan inficere vores celler og forårsage sygdom. For langt størstedelen udgøres nemlig af *bakteriofager* – også kaldet *fager* – som udelukkende inficerer bakterier og dræber dem. Man kan med andre ord sige, at *fager giver bakterier en forkølelse*. Fager blev opdaget for over 100 år siden, og da man fandt ud af, at de kunne bruges til at bekæmpe bakterielle infektioner, vakte det stor begejstring. Fager er dog meget kræsne, og det er typisk sådan, at *én type fag kun inficerer én type bakterie*. Det gjorde dem vanskelige at bruge til behandling, og da antibiotika blev opdaget nogle årtier senere, vandt denne fremskridt over brugen af fager. Fagerne i vores tarme har stor betydning for, hvilke bakterier der er til stede – og når bestanden af fager ændrer sig, ændres den bakterielle

sammensætning også. Nogle fager kan endda binde til tarmens slimhindelag, hvor de ligger i skjul og beskytter mod invasive bakterier. På den måde arbejder fager i tarmen sammen med immunforsvaret om at beskytte mod infektioner.



Tarmmikrobiomet indeholder milliarder af bakterier og virusser. Størstedelen af virusserne består af fager, der specifikt inficerer bakterier. Figuren er lavet i Biorender.com

En tarm ude af drift

I mit Ph.d.-projekt fokuserede jeg på *nekrotiserende enterokolitis*, en alvorlig inflammatorisk tarmsygdom, som for tidligt fødte børn har risiko for at udvikle indenfor de første uger af livet. Den umodne tarm hos et for tidligt født spædbarn er mere tilbøjelig til at reagere med ukontrolleret inflammation, når den møder bakterier. Tilstanden udvikler sig hurtigt fra milde symptomer til alvorlig sygdom, og inflammationen kan blive så voldsom, at tarmvævet tager skade og til sidst dør. Det ødelagte væv kan ikke reddes, og skal i stedet fjernes kirurgisk. Konsekvensen er en høj dødelighed, og den omfattende inflammation i kroppen øger samtidigt risikoen for andre sygdomme.

Det nyfødte tarmmikrobiom kan let påvirkes

Det er gentagne gange blevet vist, at en god sammensætning af tarmens mikrobiom er et tegn på sundhed – og omvendt, at en ubalance kan have store konsekvenser for ens helbred.

Tarmmikrobiomet bliver etableret ved fødslen. Her bliver gavnlige mikrober fra den fødende mor ”sået” i den nyfødtes tarm, hvor de bidrager til en sund tarmudvikling. Ved amning får den nyfødte ikke blot næring, men også bestemte sukkerstoffer, som specifikt understøtter væksten af de nye tarmmikrober. Samtidigt sikrer tæt kontakt med forældrene og hudkontakten ved amning, at den nyfødte kontinuerligt støder på et sundt mikrobiom.

Ved en for tidlig fødsel bliver mange af disse vigtige trin forstyrret. For tidligt fødte børn tilbringer ofte den første tid på hospitalet, og modtager ernæring via sonde, da de endnu ikke kan amme. Og hvis det ikke var udfordrende nok for et sundt tarmmikrobiom at etablere sig, behandles en stor andel af disse spædbørn også med antibiotika kort efter fødslen. Behandlingen er livsnødvendig ved mistanke om en infektion, men da antibiotika både slår gavnlige og skadelige bakterier ihjel, forårsages der massive ødelæggelser for det udviklende tarmmikrobiom. Resultatet kan være en ubalance, hvor sygdomsfremkaldende bakterier udkonkurrerer de gavnlige bakterier, som normalt ville trives hos terminsfødte. *Tarmmikrobiomet hos for tidligt fødte spædbørn udvikler sig derfor langsommere* end hos terminsfødte. Denne ubalance spiller en central rolle i udviklingen af nekrotiserende enterokolitis, og kan måske være ”nøglen” til at udvikle behandlinger, der ikke blot kurerer sygdommen, men helt forhindrer at den opstår.

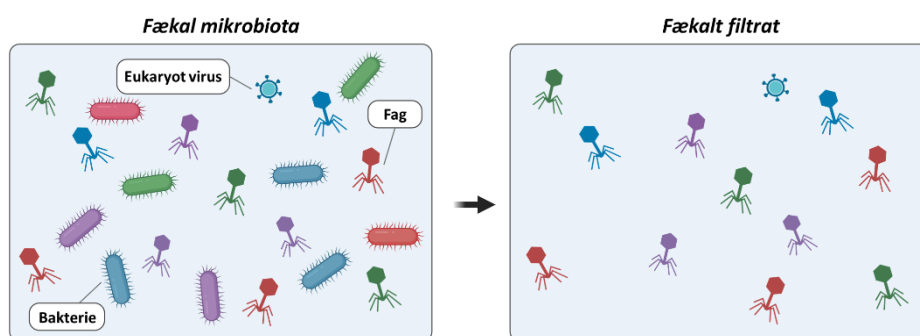
Raske donorer kan ”redde” et mikrobiom i ubalance

Brugen af antibiotika er et tveægget sværd. Det er et uundværligt våben mod infektioner, men ødelægger samtidigt bestanden af gavnlige bakterier. Derfor kan man heller ikke bruge antibiotika til at genopbygge en sund sammensætning af tarmmikrobiomet.

I stedet for antibiotika, kan man introducere gavnlige mikrober ved at overføre fæces fra en rask person – en såkaldt *fæces transplantation* – for at genoprette en sund mikrobiel sammensætning. Denne metode har vist enestående resultater, og er i dag en etableret behandling til patienter med tilbagevendende diarré, som ikke kan udryddes med antibiotika. Jeg har selv set effekten hos et nært familiemedlem, der efter flere mislykkedes antibiotikakure, fik denne behandling med stor succes. Derfor har forskere undersøgt, om fæces fra en rask nyfødt donor, der indeholder et ”raskt” tarmmikrobiom, kan forhindre udviklingen af nekrotiserende enterokolitis. Da man ikke bare sådan kan udføre kliniske forsøg på spædbørn, skal det først undersøges i forsøgsdyr – både for at få viden om effekten og mulige bivirkninger. I mit projekt blev for tidligt fødte pattegrise brugt som model af for tidligt fødte spædbørn, da grises anatomi og fosterudvikling deler mange ligheder med menneskers. En pattegris født blot én uge før termin udviser samme umodenhed i tarmen som et spædbarn født to måneder for tidligt, og udvikler spontant tarminflammation der minder om nekrotiserende enterokolitis.

Forskere har tidligere vist, at for tidligt fødte pattegrise der modtog fæces transplantation fra raske, terminsfødte pattegrise, var beskyttet mod tarminflammation. Behandlingen var dog også forbundet med alvorlig infektion fra bakterierne i behandlingen. Derfor undersøgte forskerne, om det var muligt at gøre behandlingen mere sikker ved at filtrere bakterierne fra, og derved give et *fækalt filtrat* – som blandt andet indeholder viromet. Denne gang var grisene fortsat beskyttet mod inflammation, men uden bivirkninger eller infektioner. Det tyder derfor på, at overførsel af et fækalt filtrat fra en rask donor potentielt kan beskytte mod nekrotiserende enterokolitis.

Det er dog stadigvæk uklart, i hvilket omfang virussernes aktivitet spiller en afgørende rolle for behandlingens effekt, og det brugte jeg mit Ph.d.-projekt på at undersøge.



Et fækalt filtrat indeholder virusserne fra det fækale mikrobiom, men ingen bakterier.

Figuren er lavet i Biorender.com

Er det virussernes tilstedeværelse eller aktivitet der beskytter?

Dette spørgsmål var omdrejningspunktet for den første del af mit Ph.d.-projekt. For at besvare det, sammenlignede jeg effekten af fækale filtrater med enten aktive eller inaktive virusser. Først blev et fækalt filtrat, indeholdende aktive virusser, forberedt af fæces opsamlet fra raske pattegrise. En portion af dette filtrat blev derefter bestrålet med ultraviolet lys, som inaktiverer virusserne ved at ødelægge deres DNA. Da nyfødte pattegrise blev behandlet med disse fækale filtrater, viste det sig, at det ubehandlede filtrat med aktive virusser beskyttede mod tarminflammation, og ændrede tarmmikrobiomet så der var færre sygdomsfremkaldende bakterier. Det bestrålede filtrat med inaktive virusser havde derimod ingen gavnlig effekt. Resultaterne tydede derfor på, at *virussernes aktivitet, og ikke blot deres tilstedeværelse* i det fækale filtrat, var nødvendig for at opnå den beskyttende effekt mod tarminflammation. Behandlingen var dog ikke uden bivirkninger, da pattegrise der modtog det aktive fækale filtrat, oftere udviklede tidlig diarré – muligvis på grund af uidentificerede eukaryote virus i det fækale filtrat.

Det ukendte i fækale filtrater

Den præcise sammensætning af bakterier og virusser i tarmen kan være svær at kortlægge. Mange af tarmens mikroorganismer er ukendte, og forholdet mellem dem kan ændre sig fra dag til dag. Det gør det vanskeligt at opnå den samme behandlingseffekt af fækale filtrater – selv fra samme donor. Selvom størstedelen af tarmens virom udgøres af fager, kan der også være eukaryote virusser til stede, som inficerer vores egne celler. Derfor kræver fækalt donormateriale som regel omfattende screening for at sikre, at det ikke indeholder potentielt farlige mikroorganismer.

Som alternativ til at behandle med et helt virom fra en rask donor, er det muligt at bruge *fagterapi*. Her anvendes enkelte udvalgte fager, som specifikt inficerer netop de bakterier, der forårsager sygdommen. Flere fager kan kombineres i en *fagcocktail*, for at ramme flere typer af bakterier på én gang. Fagterapi rummer derfor potentialet for en mere kontrolleret og ensartet behandling, uden risiko for infektioner fra ukendte virusser.

Kan relevante fager beskytte tarmen mod inflammation?

Det leder os til den anden del af min Ph.d., som dette spørgsmål lagde grundlag for. Her opsamlede jeg tarmvæv fra pattegrise med tarminflammation, og dyrkede bakterier fra slimhinden, som med høj sandsynlighed bidrog til inflammationen. Derefter gik jeg på jagt efter fager som kunne inficere netop disse bakterier, blandt andet ved at screene fæces fra raske grisedonorer. Dette arbejde resulterede i en samling af ti nøje udvalgte fager, som blev kombineret til en fagcocktail og givet til nyfødte pattegrise. I dette studie var der lav forekomst af sygdommen – også hos dem der ikke fik behandling – og fag cocktailen viste desværre ikke nogen beskyttende effekt mod tarminflammation i denne omgang. Til gengæld var det muligt at dokumentere, at *behandling med fagerne ikke medførte bivirkninger* såsom tidlig diarré. Det indikerer, at fagterapi har potentiale som en sikker behandlingsform, også hos nyfødte.

For at opsummere...

... kunne jeg på baggrund af min forskning konkludere, at *aktive virusser i det fækale filtrat er nødvendige* for at opnå en beskyttelse mod nekrotiserende enterokolitis og at *fagterapi kan være en veltolereret og målrettet behandling* i nyfødte. Selvom mit arbejde udelukkende er præklinisk, er det mit håb at resultaterne kan bidrage til overvejelser om fremtidig brug af fagterapi. Ved at dokumentere, at fagernes aktivitet er afgørende, understreger det også vigtigheden i korrekt opbevaring af både fækale filtrater og fag-baserede behandlinger, så fagernes aktivitet vedligeholdes. Forskningen indenfor tarmsundhed er i fuld udvikling, og der forskes i tarmbakteriernes rolle i alt fra inflammatoriske tarmsygdomme til neurologiske sygdomme, hudsygdomme og andet. Meget af denne forskning udføres i voksne mennesker eller dyremodeller af disse, imens der stadig mangler meget viden, før fager kan anvendes rutinemæssigt hos nyfødte. Det er dog positivt, at fager allerede findes som en naturlig del af tarmens mikrobiom, og at man ved fagterapi blot påvirker de naturlige interaktioner mellem bakterier og fager.

Fra dyreforsøg til klinisk anvendelse

Det er ekstremt vanskeligt at efterligne komplekse sygdomme ved at bruge cellekulturer, og dyreforsøg er derfor ofte nødvendige. Disse er forbundet med mange etiske overvejelser, og bliver nøje planlagt med detaljerede retningslinjer for at sikre, at dyrene ikke lider unødigt. Derfor værdsætter jeg også de dyr som har bidraget til denne og tidligere forskning, og ser deres anvendelse som et skridt til at forbedre overlevelsen og livskvaliteten hos for tidligt fødte børn.

Forskere på Rigshospitalet er ved at rekruttere deltagere til et klinisk forsøg, hvor for tidligt fødte spædbørn vil modtage et fækal filtrat fra raske terminsfødte spædbørn. Målet er at bekræfte sikkerheden i denne behandling – og forhåbentligt komme et skridt tættere på en effektiv forebyggelse af nekrotiserende enterokolitis i denne sårbare gruppe.

At få et for tidligt født barn er utroligt livsomvæltende, og ofte ledsaget af frygt for komplikationer, hvor nekrotiserende enterokolitis er en af de værste.

Mit håb er, at vi i fremtiden kan sikre for tidligt fødte spædbørn en sund tarmudvikling på linje med terminsfødte. Og måske vil læger en dag ordinere en dosis fagcocktail – skål!