

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Fyziologická role mikrobiomu u člověka

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Sofie Wagnerová

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

Physiological Role Of Human Microbiome

BACHELOR THESIS

2022

Sofie Wagnerová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Sofie Wagnerová**
Osobní číslo: **C19312**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Fyziologická role mikrobiomu u člověka**
Téma práce anglicky: **Physiological Role Of Human Microbiome**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na popis důležitosti mikrobiomu pro fyziologickou funkci lidského organismu. Ve své práci nejprve, co je považováno za složky lidského mikrobiomu, jejich význam pro funkci daných tkání a orgánů (střevo, kůže, sliznice GIT, atd.) a dále pak odlišnosti mikrobiomu mezi jedinci. V rámci bakalářské práce následně popište aktuální pohled na problematiku vztahu změn v mikrobiomu a vybraných, alespoň tří onemocnění (např. neurodegenerativních a civilizačních chorob), které byly v poslední době ve vědecké literatuře identifikovány.
2. Ke zpracování kompilace využijte elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *ScienceDirect*, *NCBI Pubmed*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Fyziologická role mikrobiomu u člověka jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Sofie Wagnerová v. r

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat doc. RNDr. Tomáši Roušarovi, Ph.D. za odborné vedení, poskytnutí věcných připomínek, ochotu a vstřícnost při vypracování bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a trpělivost při studiu.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je zaměřena na roli mikrobiomu v lidském těle. V práci jsou popsány významné funkce, které mikrobiom v lidském těle zastává. Podrobněji se pak zabývá popisem střevního mikrobiomu, jeho funkcemi a faktory, které ovlivňují jeho složení. Střevní dysbióza může způsobit, nebo může být projevem několika nemocí. V této práci je uveden popis změn mikrobiomu u Crohnovy choroby, ulcerózní kolitidy, kolorektálního karcinomu a syndromu dráždivého tračníku. V závěru práce je popsáno, jakým způsobem lze mikrobiom cíleně modulovat.

KLÍČOVÁ SLOVA

mikrobiom, střevo, Crohnova choroba, ulcerózní kolitida, kolorektální karcinom, syndrom dráždivého tračníku

ANNOTATION

This bachelor's thesis is focused on the physiological role of human microbiome. In the thesis, important functions of the microbiome in a human body are described. Then, the thesis deals in more detail with the description of the gut microbiome, functions, and the factors, affecting its composition. Gut dysbiosis can cause or be a manifestation of several diseases. In this thesis, the microbiome in Crohn's disease, ulcerative colitis, colorectal carcinoma, and irritable bowel syndrome were described. Finally, the thesis deals with possible ways of modulating the microbiome.

KEYWORDS

microbiome, gut, Crohn's disease, ulcerative colitis, colorectal carcinoma, irritable bowel syndrome

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ.....	10
SEZNAM ZKRATEK	11
1. ÚVOD.....	12
2. TEORETICKÁ ČÁST	13
2.1 Lidský mikrobiom.....	13
2.1.1 Odlišnosti mezi mikrobiomy	13
2.1.2 Funkce střevního mikrobiomu.....	16
2.1.2.1 Syntéza vitaminů	17
2.1.2.2 Podíl mikrobiomu na trávení.....	18
2.1.2.3 Produkce důležitých látek mikrobiomem.....	18
2.1.2.4 Vliv mikrobiomu na imunitní systém.....	20
2.1.3 Mechanismy komunikace střevní mikrobioty.....	22
2.1.3.1 Osa mozek-střevo	22
2.1.3.2 Mastné kyseliny s krátkým řetězcem	24
2.2 Vliv dysbiózy u vybraných onemocnění.....	26
2.2.1 Idiopatické střevní záněty	27
2.2.1.1 Crohnova nemoc.....	30
2.2.1.2 Ulcerózní kolitida	30
2.2.2 Kolorektální karcinom	31
2.2.3 Syndrom dráždivého tračníku.....	32
2.3 Složení mikrobiomu gastrointestinálního traktu	33
2.3.1 Složení fekální mikrobioty.....	37
2.3.2 Enterotypy.....	38
2.4 Faktory ovlivňující mikrobiom	39
2.4.1 Ovlivnění mikrobiomu antibiotiky	40
2.4.2 Ovlivnění mikrobiomu infekční gastroenteritidou	41

2.4.3	Ovlivnění mikrobiomu stravou.....	42
2.4.4	Tvorba mikrobiomu na začátku života	45
2.4.4.1	Vliv císařského řezu na tvorbu mikrobiomu	46
2.4.4.2	Vliv kojení na tvorbu mikrobiomu	47
2.4.5	Změna mikrobiomu s rostoucím věkem	49
2.5	Modulace složení mikrobiomu.....	49
3.	ZÁVĚR	53
4.	LITERÁRNÍ ZDROJE	54

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Zastoupení bakteriálních kmenů v lidských orgánech	16
Obrázek 2: Funkce mikrobiomu	17
Obrázek 3: Metabolity produkované střevní mikrobiotou	20
Obrázek 4: Prostředky komunikace mezi střevní mikrobiotou a mozkiem.....	23
Obrázek 5: Formy působení mastných kyselin s krátkým řetězcem na buňky.....	26
Obrázek 6: Možné umístění zánětu u idiopatických střevních zánětů.....	31
Obrázek 7: Hlavní zástupci střevního mikrobiomu	34
Obrázek 8: Faktory ovlivňující mikrobiální flóru v gastrointestinálním traktu.....	36
Obrázek 9: Faktory ovlivňující složení střevního mikrobiomu	40
Obrázek 10: Faktory ovlivňující vývoj střevního mikrobiomu na začátku života	46
Obrázek 11: Sloučeniny získané z mateřského mléka	468
Obrázek 12: Mechanismy působení léčby fekální transplantací stolice	52

SEZNAM ZKRATEK

AIEC	adherentně invazivní <i>Escherichia coli</i>
AMP	antimikrobiální peptidy
BBB	hematoencefalická bariéra
CD	Crohnova choroba
CNS	centrální nervový systém
CRC	kolorektální karcinom
FODMAP	fermentovatelné oligosacharidy, disacharidy, monosacharidy a polyoly
GABA	kyselina gama-aminomáselná
IBD	idiopatické střevní záněty
IBS	syndrom dráždivého tračníku
Nod2	oligomerizační doménu vázající nukleotid obsahující 2 (<i>Nucleotide binding oligomerization domain containing 2</i>)
SCFA	mastné kyseliny s krátkým řetězcem
UC	ulcerózní kolitida

1. ÚVOD

Lidské tělo je osídleno biliony mikroorganismů, tvořícími mikrobiom, které svým složením ovlivňují zdravotní stav jedince. Dysbióza, při které dochází ke snížení rozmanitosti bakteriálních druhů a převaze patobiontů nad komenzálními bakteriemi, je spojována s mnoha chorobami. Nalezení charakteristik, které odlišují zdravé od nezdravých mikrobiomů, by mohlo v budoucnosti napomoci při diagnostice onemocnění souvisejících s mikrobiomem a mohlo by potenciálně poskytnout nové prostředky k prevenci nástupu onemocnění nebo ke zlepšení prognózy.

Cílem této práce je charakterizovat složení mikrobiomu u zdravého člověka a popsat jeho odlišnost od mikrobiomů pacientů trpících civilizačními chorobami, jako jsou Crohnova nemoc, ulcerózní kolitida, kolorektální karcinom a syndrom dráždivého tračníku.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Lidský mikrobiom

Pojem mikrobiota označuje komplexní společenství mikroorganismů přežívající v různých částech hostitele. Souhrn všech mikroorganismů, jejich genetického materiálu a podmínek prostředí v lokalitě, kde se nachází, se nazývá mikrobiom. Oba pojmy bývají používána jako synonyma. V těle dospělého člověka žije odhadem 100 biliónů bakterií. Počet mikrobů osídlujících naše tělo je desetkrát větší, než počet buněk v našem těle a mají 150krát více genů než lidský genom (Qin, 2010). Z toho se 80 % bakterií nachází ve střevech. Střevnímu prostředí dominují převážně anaerobní bakterie, ale nachází se zde i viry, protozoa, archaea a plísně (Raskov, 2016). Mikrobiom je z největší části definován bakteriemi z kmenů *Bacteroidetes* a *Firmicutes* a z menší části je složen také bakteriemi kmenů *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* a *Verrucomicrobia* (Wang, 2016). Ačkoli nejznámější eukaryotické mikroorganismy nacházející se v lidském těle nebo na něm jsou typicky patogeny, mnoho takových eukaryot, zejména rody *Candida*, *Malassezia* a *Saccharomyces*, je všudypřítomných i ve zdravé populaci (Lukeš, 2015). Někteří prvoci jsou dokonce běžnými obyvateli zdravých mikrobiomů s ještě větší interpersonální variabilitou než bakterie. Přítomnost některých prvoků, jako je rod *Blastocystis*, byla spojena se sníženým rizikem gastrointestinálního onemocnění (Rossen, 2015).

Střevní mikroflóra se s vývojem člověka mění a je ovlivněna různými stresovými faktory. Děti získávají počáteční mikrobiom od svých matek. Po 1. roce života si kojenci tvoří komplexní střevní mikrobiom jako dospělí. Složení střevní mikroflóry není fixní a mění se s přibývajícím věkem. Změny v přítomnosti prospěšných bakterií mohou významně ovlivnit zdraví jednotlivců. Některé faktory, jako infekce, léky, nemoc a strava, mohou změnit celý mikrobiom. Poruchy složení střevní mikroflóry jsou spojovány s řadou lidských onemocnění, včetně gastrointestinálních poruch, obezity, mrtvice, rakoviny, diabetu typu 1 i 2, revmatoidní artritidy, alergií, roztroušené sklerózy, autismu, Alzheimerovy choroby (Lloyd-Price, 2016).

2.1.1 Odlišnosti mezi mikrobiomy

Mikrobiomy pravidelně vykazují velkou míru interpersonální diverzity i při absenci onemocnění. Jinak je tomu u dvojčat, zvláště u jednovaječných dvojčat, kdy bylo hlášeno, že mají více podobnou interindividuální fekální mikrobiotu než nepříbuzní

lidé. Navíc dvojčata a jejich matky mají podobnější mikrobiotu než nepříbuzní jedinci. Tato zjištění vedla k závěru, že genotyp hostitele ovlivňuje vývoj střevní mikrobioty a složení střevních bakterií (Simões, 2013).

Mnoho tělesných biotopů u zdravých jedinců je obsazeno mikrobiálními společenstvími, ačkoli nejsou tak dobře prozkoumané jako střevní mikrobiom. Složení mikrobiální komunity je podobnější uvnitř než mezi jednotlivými biotopy, např. orální mikrobiom sdílí větší podobnost s orálními komunitami u jiných lidí než s jinými biotopy v rámci stejné osoby. K mikrobiální kolonizaci dochází na kůži, v urogenitálním a respiračním traktu, v mazových, žlučových a mléčných žlázách, a především v gastrointestinálním traktu.

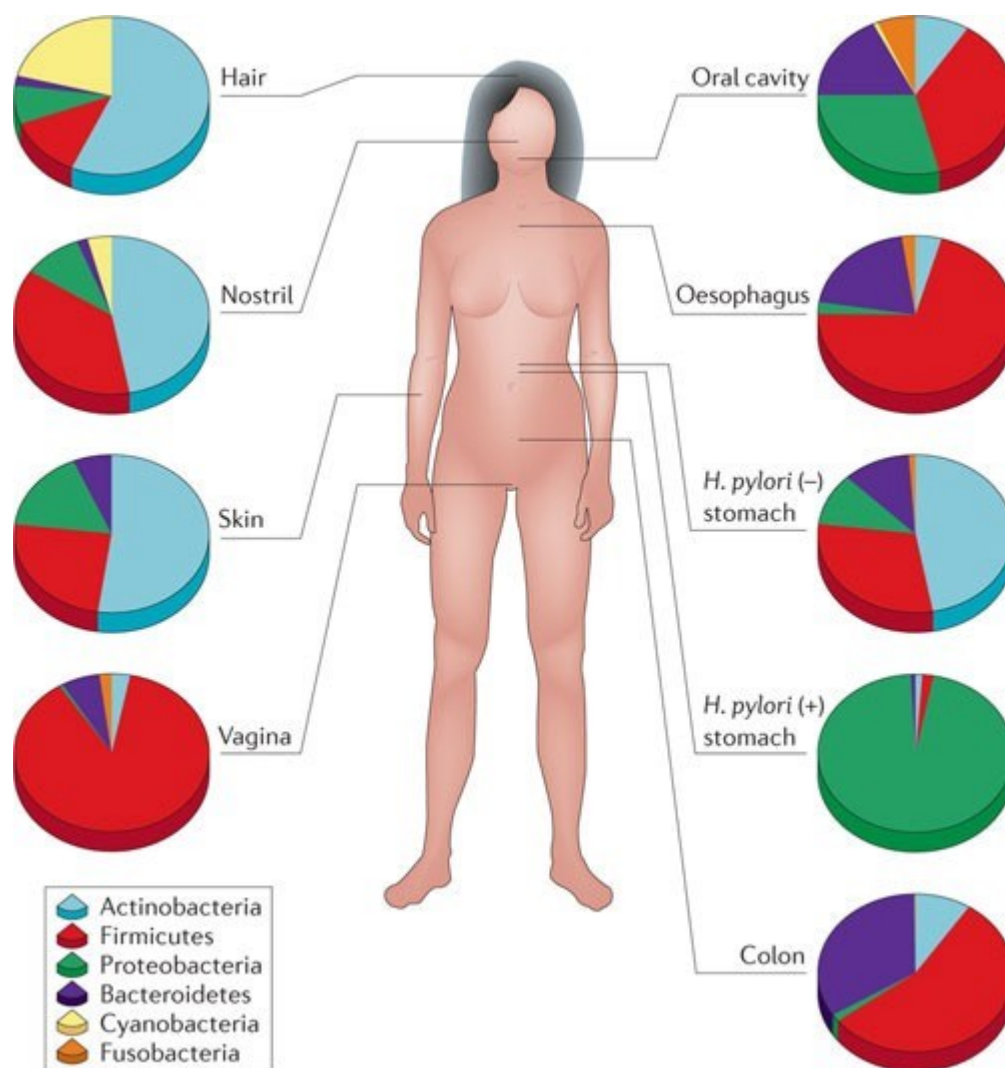
Osídlení kůže mikroby se liší především lokálními vlastnostmi kůže. Na kůži se nachází značná škála mikroorganismů v závislosti na různých oblastech těla a podmínkách vlhkosti, pH, produkce mazu a dalších faktorech (Byrd, 2018). Mikrobiální kolonizace byla také hlášena ve vlasových folikulech a mazových žlázách. Nejsušší oblasti kůže pokrývá zejména rod *Staphylococcus*, v mazových partiích převažují lipofilní druhy, jako je rod *Propionibacterium*, a v nejlhčích oblastech, jako jsou záhyby rukou a nohou, dominuje rod *Corynebacterium* (Requena, 2021). Kožní mikrobiom zajišťuje bariérové funkce proti kolonizaci patogeny prostřednictvím modulace imunitní odpovědi pomocí keratinocytů a efektivním využíváním živin z kožních sekretů, což vede k produkci antimikrobiálních peptidů (AMP) a organických kyselin, které se podílejí na snižování pH pokožky (Byrd, 2018). Řada mikroorganismů kožního mikrobiomu může být za určitých podmínek oportunními patogeny. Přítomnost ran nebo stav imunosuprese může vést k patogennímu chování druhu *Staphylococcus epidermidis* (Chen, 2018). Některé kožní poruchy, jako je psoriáza, atopická dermatitida, akné, lupy a pomalu se hojící rány, jsou spojeny s mikrobiologickými změnami (Egert, 2017). *Cutibacterium acnes* se typicky nachází v mikrobiotě zdravých jedinců, ale obvykle převládá během puberty kvůli zvýšené sekreci mazu, což způsobuje chronický zánět kůže (Requena, 2021). Řada studií také korelovala rozdíly v kožní mikrobiotě s přitažlivostí komárů rodu *Anopheles* přenášejících malárii (Requena, 2021).

Dýchací trakt je osídlen mikroorganismy od nosních jamek až po plicní sklípky, přičemž nejvyšší koncentrace se nacházejí v horních cestách dýchacích (Man, 2017). Mikrobiom dýchacích cest přispívá k obraně proti kolonizaci patogeny a infekci a brání tak jejich postupu celým traktem. Podmínky se zvýšenou relativní vlhkostí a teplotou, stejně jako parciální tlaky kyslíku a oxidu uhličitého, ovlivňují specifické populace, které

jsou charakteristické pro jednotlivé části dýchacího traktu. Nosní mikrobiota je podobná kožní, převládají rody *Staphylococcus*, *Propionibacterium* a *Corynebacterium*. Mikrobiota nosohltanu je pestřejší a rozmanitější a obsahuje rody *Haemophilus* a *Streptococcus*. Bakteriální společenstva horní části hltanu zahrnují rody *Streptococcus*, *Neisseria*, *Veillonella* a *Prevotella* (Man, 2017). Plicní mikrobiota se skládá z přechodného společenství mikroorganismů převážně z nosohltanu a horní části hltanu a jsou výsledkem rovnováhy mezi mikroorganismy, které do plic putují a jsou z nich eliminovány (Requena, 2021). Specifičtí mikroorganismy mikrobioty nosohltanu mohou aktivně vyloučit respirační patogeny, např. druh *Staphylococcus epidermidis* má schopnost vyloučit druh *Staphylococcus aureus* prostřednictvím sekrece serinových proteáz, které eliminují biofilmy vytvořené patogenem (Requena, 2021).

Zdravá vagína obsahuje jeden z nejpozoruhodněji strukturovaných mikrobiálních ekosystémů s různými typy komunit, kdy jim převážně dominují rod *Lactobacillus* doplněný rody o *Gardnerella*, *Prevotella*, *Atopobium* a *Bifidobacterium* (Ravel, 2011). Přítomnost rodu *Lactobacillus* ve vagíně je spojena zejména s plodným věkem, a to kvůli produkci estrogenu, který podporuje ztlustění sliznice a akumulaci glykogenu, který je využíván tímto rodem k produkci kyseliny mléčné, okyselující prostředí vagíny na hodnoty pH mezi 4 a 4,5 a působí jako bariéra pro kolonizaci jinými mikroorganismy (Moreno, 2019). Ve vaginálním kontextu je zvýšení bakteriální diverzity se zvýšením podílu anaerobů na úkor rodu *Lactobacillus* spojeno se zvýšeným rizikem bakteriální vaginózy (Requena, 2021). Mezi významné determinanty určující vaginální mikrobiom ženy patří rasa, etnická příslušnost a těhotenství (Fettweis, 2014).

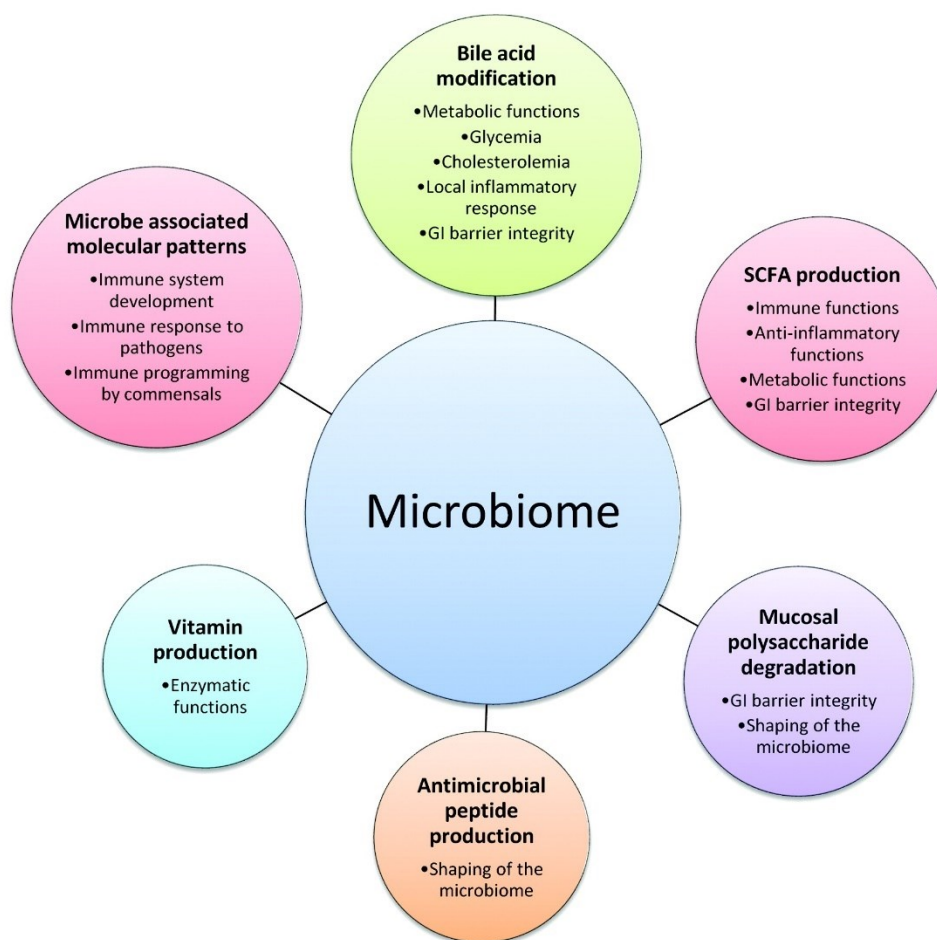
Mikrobiota mužského reprodukčního traktu byla prozkoumána méně než mikroflóra žen. Přestože bakteriospermie je negativně spojena s plodností, nejnovější studie prokázaly, že přítomnost rodu *Lactobacillus* ve spermatu je relativně častá u plodných jedinců s normálními parametry spermií, zatímco převaha rodu *Prevotella* je spojena s poruchami motility (Baud, 2019). Podobně jako u vaginální mikroflóry se zdá, že menší diverzita semenné mikroflóry souvisí se zdravým stavem.



Obrázek 1: Zastoupení bakteriálních kmenů v lidských orgánech (Cho, 2012)

2.1.2 Funkce střevního mikrobiomu

Mikroorganismy zajišťují pro člověka řadu významných funkcí. Mikrobiota se podílí na životních pochodech organismu člověka pomocí řady mechanismů. Mikroorganismy umožňují využití vlákniny jako zdroje energie pomocí její fermentace. Uvolňováním různých strukturních molekul a metabolických produktů regulují imunitní buňky a tím formují imunitní systém. Mají vliv na střevní motilitu a prokrvení sliznice. Přítomnost komenzálních mikrobů je nezbytná pro správné trávení, produkci vitaminů a získávání živin. Svou přítomností nebo produkcí antimikrobiálních látek zabraňují růstu patogenních bakterií a dalších mikroorganismů. Dodáváním zdrojů energie pro stimulaci a růst bariérové funkce ovlivňují vývoj střeva. Produkují hormony a neurotransmitery a podílí se na metabolismu žlučových kyselin.



Obrázek 2: Funkce mikrobiomu (Jones, 2014)

2.1.2.1 Syntéza vitaminů

Vitaminy jsou základní mikroživiny, které se běžně vyskytují jako prekurzory různých enzymů, které jsou nezbytné pro životně důležité biochemické reakce ve všech živých buňkách. Lidé postrádají biosyntetickou kapacitu pro většinu vitaminů, a proto musí být získávány exogenně. Střevní komenzální bakterie, jako jsou rody *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, mohou *de novo* syntetizovat a dodávat člověku vitaminy, které si není sám schopen vytvořit (LeBlanc, 2013). U lidí bylo prokázáno, že členové střevní mikrobioty jsou schopni syntetizovat vitamin K a také většinu vitaminů skupiny B rozpustných ve vodě, jako je biotin, kobalamin, foláty, kyselina nikotinová, kyselina panthotenová, pyridoxin, riboflavin a thiamin. Na rozdíl od vitaminů získaných z potravy, které jsou adsorbovány v tenkém střevě, dochází k převažujícímu vylučování mikrobiálně produkovaných vitaminů v tlustém střevě (LeBlanc, 2013).

2.1.2.2 Podíl mikrobiomu na trávení

Vláknina ze stravy zahrnující lignin, neškrobové polysacharidy, rezistentní škrob a oligosacharidy je odolná vůči trávení trávicími enzymy člověka. Střevní mikrobi mají řadu enzymů pro využití těchto různých sacharidů. Bakterie z kmenů *Bacteroidetes* a *Firmicutes* mají ve svých genomech největší sadu genů kódujících glykosid hydrolázy pro využití různých polysacharidů jako zdrojů uhlíku (Osadchiy, 2019). Střevní mikrobiota tlustého střeva fermentuje veškerou vlákninu, což má za následek uvolňování mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFA), plynů jako metan, vodík a oxid uhličitý, menší množství organických kyselin včetně laktátu a sukcinátu a alkoholy zahrnující methanol a ethanol (Osadchiy, 2019).

V tenkém střevě se nestrávené proteiny štěpí na peptidy, aminokyseliny a další metabolity prostřednictvím extracelulárních bakteriálních proteáz a peptidáz (Portune, 2016). Tyto metabolity lze rozdělit na neuroaktivní sloučeniny, metabolity obsahující sulfidy, aromatické sloučeniny, polyaminy a amoniak. Zdroje bílkovin ve stravě mají výrazný vliv na složení střevních mikrobů. Dostupnost poměru bílkovin a sacharidů ve stravě určuje katabolické cesty střevní mikrobioty. Katabolismus vede k produkci kyseliny gama-aminomáselné (GABA), norepinefrinu, dopaminu, histaminu a serotoninu (Portune, 2016). Tyto katabolické produkty mohou mít roli při modulaci osy střevo-mozek nebo při udržování dusíkové bilance hostitele.

2.1.2.3 Produkce důležitých látek mikrobiomem

Střevní mikrobiota a její metabolity se podílejí na modulaci funkcí gastrointestinálního traktu, vzhledem k jejich schopnosti ovlivňovat střevní propustnost, imunitní funkci sliznice, střevní motilitu a citlivost a aktivitu v enterickém nervovém systému (Mayer, 2015). Několik molekul s neuroaktivní funkcí je produkováno střevními bakteriemi a působí na enterický nervový systém, čímž modulují střevní homeostázu. Mezi hlavní funkce enterického nervového systému patří regulace střevní peristaltiky, lokálního průtoku krve, uvolňování střevních hormonů, transport tekutin skrze sliznici, vstřebávání živin a interakce s imunitním systémem.

Bakterie produkují širokou škálu neurotransmiterů, včetně dopaminu, norepinefrinu, serotoninu, kyseliny gama-aminomáselné a prekurzorů a metabolitů tryptofanu (Strandwitz, 2018). Například rody *Candida*, *Escherichia*, *Enterococcus* a *Streptococcus* patří k producentům serotoninu, rody *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*

generují GABA, rod *Lactobacillus* produkuje acetylcholin, rody *Bacillus* a *Serratia* dopamin a rody *Escherichia* a *Saccharomyces* norepinefrin (Socala, 2021).

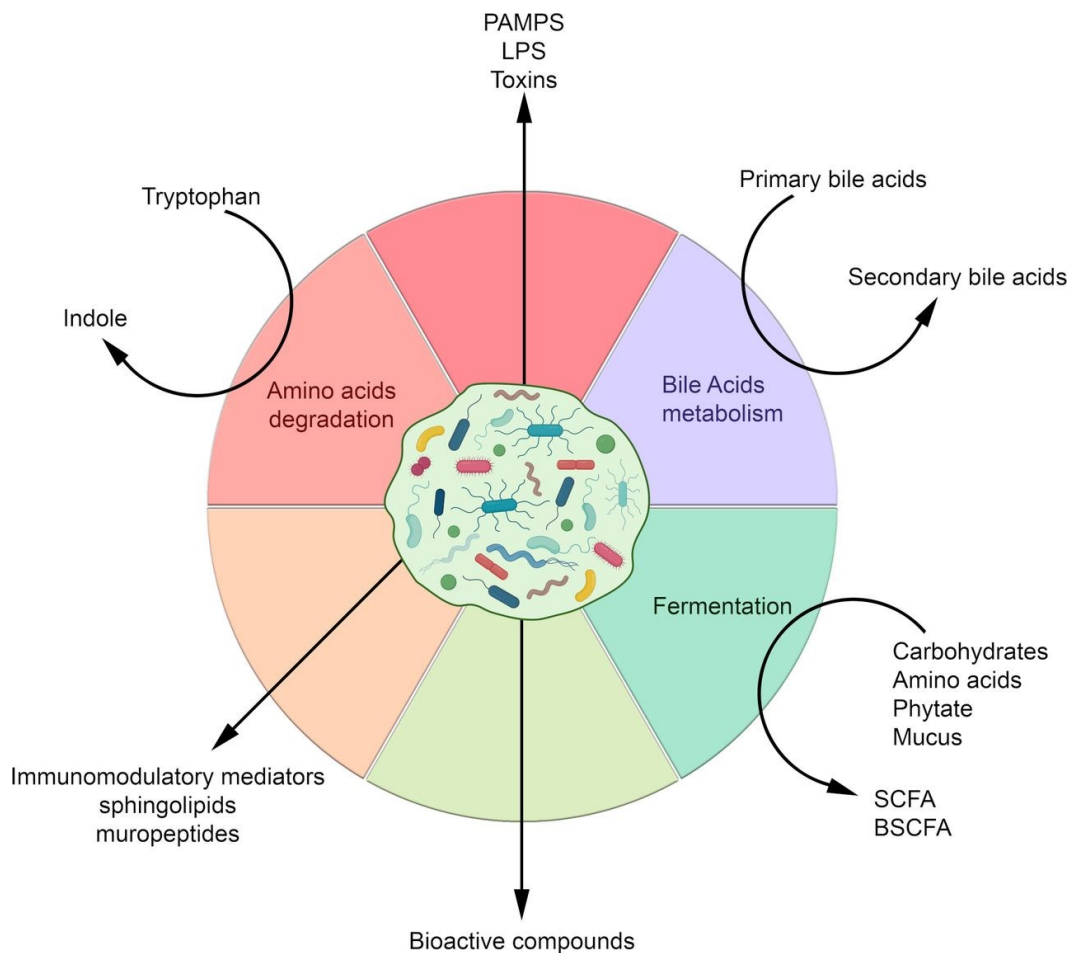
Více než 90 % serotoninu a 50 % dopaminu je produkováno v gastrointestinálním traktu primárně enterochromafinními buňkami a v menší míře myenterickými neurony a žírnými buňkami (Raskov, 2016). Mikrobiota hraje kritickou roli v regulaci serotoninu, zvyšuje jeho hladiny v tlustém střevě a krvi primárně zvýšením syntézy serotoninu enterochromafinními buňkami (Yano, 2015). Obzvláště sporotvorné bakterie podporují syntézu serotoninu z enterochromafinních buněk tlustého střeva, čímž modulují motilitu, sekreci a imunitní reakce (Raskov, 2016). Střevní mikroflóra působí na enterochromafinní buňky také prostřednictvím SCFA a zvyšuje produkci serotoninu primárně v distálním střevě (Yano, 2015).

Vzhledem k přítomnosti hematoencefalické bariéry (BBB) je nepravděpodobné, že by se neurotransmitery produkované ve střevech dostaly do mozku, s výjimkou GABA. Neurotransmitery produkované ve střevě však mohou ovlivnit mozek nepřímo působením na enterický nervový systém.

GABA je enterický inhibiční neurotransmitter nacházející se ve vysokých hladinách v myenterickém plexu a v endokrinních buňkách střeva. Je důležitým modulátorem střevní motility. Signalizace GABA v centrálním nervovém systému (CNS) je spojena s úzkostí a depresí, které jsou často spojeny s idiopatickými střevními záněty (IBD) (Wlodarska, 2015). Člověk a některé bakterie mají schopnost konvertovat aminokyselinu glutamát na GABA (Cryan, 2019). GABA je produkována hostitelem ze substrátu glutamátu v reakci zahrnující L-glutamátdekarboxylázu. Některé bakterie z rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* také produkuje GABA ve střevě pomocí stejné biosyntetické dráhy (Wlodarska, 2015). Bezmikrobní myši vykazují významně nižší hladiny GABA oproti myším s normální mikrobiotou (Cryan, 2019).

Žlučové kyseliny zastávají významnou roli v regulaci homeostázy střevní mikrobioty. Primární žlučové kyseliny, například kyselina cholová a chenodeoxycholová, v tenkém střevě usnadňují trávení lipidů a vitaminů rozpustných v tucích a do střeva se dostávají spolu se žlučí. Většina primárních žlučových kyselin je resorbována v distálním kyčelníku a pouze 5 % jich je činností bakterií vybavených 7 α -dehydroxylázovým komplexem přeměněno na sekundární žlučové kyseliny jako je kyselina lithocholová (Stebel, 2020). Sekundární žlučové kyseliny vykazují stejně jako SCFA imunomodulační účinky potlačením tvorby prozánětlivých cytokinů a regulací růstu některých bakterií.

Clostridium difficile patří mezi nejvýznamnější původce nosokomiálních průjmů, které mohou být potencionálně smrtelné. Primární žlučové kyseliny podporují klíčení spor *Clostridium difficile* a sekundární žlučové kyseliny naopak potlačují růst i germinaci klostridií (Stebel, 2020). U pacientů s rekurentní klostridiovou infekcí chybí v důsledku těžké dysbiózy v tračníku bakterie vybavené potřebnými enzymy pro transformaci primárních žlučových kyselin na sekundární, a navíc se u těchto pacientů nachází minimální množství sekundárních žlučových kyselin (Mills, 2018). Transplantací fekální mikrobioty lze dosáhnout zvýšení jejich zastoupení nápravou dysbiózy a také přímým transferem se stolicí dárce do střeva pacienta (Mills, 2018).



Obrázek 3: Metabolity produkované střevní mikrobiotou (De Vos, 2022) SCFA-mastné kyseliny s krátkým řetězcem, BSCFA-rozvětvené SCFA, LPS-lipopolysacharidy, PAMP-molekulární vzory asociované s patogeny

2.1.2.4 Vliv mikrobiomu na imunitní systém

Interakce mezi imunitním systémem a střevní mikrobiotou má ústřední roli ve zrání imunitního systému během časného postnatálního období a roli v modulaci imunitního systému a odpovědi na vlastní antigeny během celého života (D'Amelio, 2017).

Bakteriální druhy sídlící ve vrstvě hlenu tlustého střeva, buď prostřednictvím přímého kontaktu s hostitelskými buňkami, nebo prostřednictvím nepřímé komunikace prostřednictvím bakteriálních metabolitů, mohou ovlivnit, zda je udržována hostitelská buněčná homeostáza nebo zda jsou spuštěny zánětlivé mechanismy (Carding, 2015). Imunitní systém střevní sliznice a epitelální buňky vystýlající její povrch tvoří ochrannou bariéru pro integritu střevního traktu (Shi, 2017).

Kolonizace střev mikroby je klíčová pro vývoj a funkci střevního imunitního systému. Jak komenzální, tak patogenní mikroorganismy určují následek infekce. Mikroby jsou detekovány receptory pro rozpoznávání patogenních vzorů, včetně Toll-like receptorů, Nod-like receptorů, lektinových receptorů typu C (Guan, 2019). Tyto receptory detekují patogen-asociované molekulární vzory a molekulární vzory asociované s poškozením, které pochází z hostitelské buňky a uvolňují se během poškození nebo po smrti buňky. Rozpoznání těchto vzorů pomocí receptorů pro rozpoznávání patogenních vzorů aktivuje vrozený imunitní systém, což vede k aktivaci nukleárního faktoru kappa B a inflamasomu, což stimuluje produkci prozánětlivých cytokinů a chemokinů (Guan, 2019). Patogen-asociované molekulární vzory se nachází v mnoha druzích patogenních i nepatogenních mikrobů, a proto rozpoznávání pomocí receptorů pro rozpoznávání patogenních vzorů do značné míry nedokáže rozlišit mezi nepatogenními a patogenními mikroby (Guan, 2019). Rozpoznání komenzálních mikrobů vrozenou imunitou má klíčovou roli při udržování střevní homeostázy a je klíčové pro ochranu před poškozením střev. Nerovnováha těchto interakcí přispívá k rozvoji střevního zánětu. Interakce mezi prospěšnými komenzálními bakteriemi a imunitními buňkami vede k regulaci snížené exprese prozánětlivých genů, zatímco protizánětlivé geny jsou zvýšeně exprimovány (Maukonen, 2015).

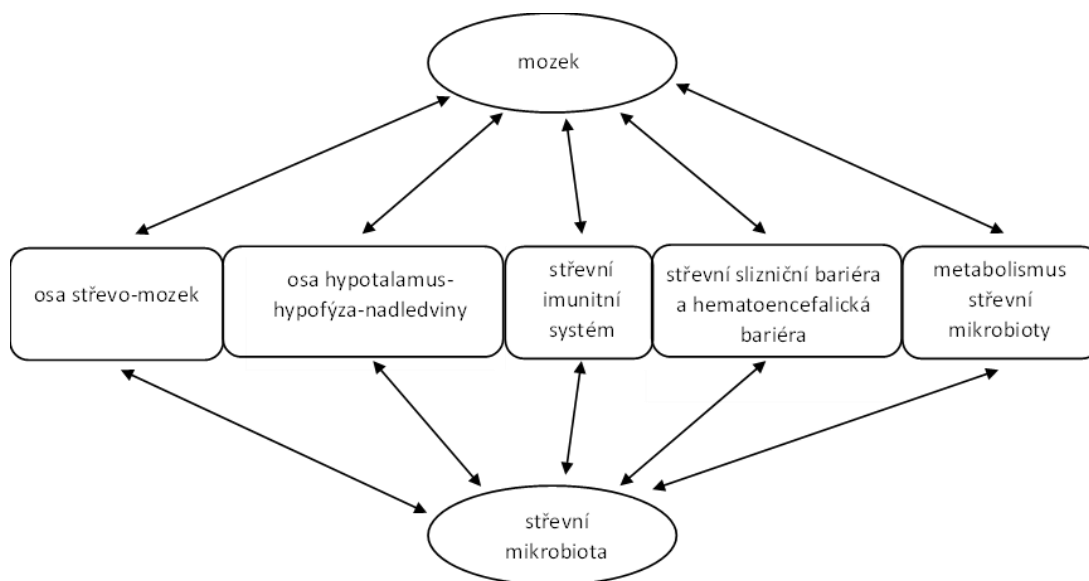
Produkty metabolismu střevní mikrobioty ovlivňují zrání a aktivitu T-lymfocytů a mohou regulovat imunitní systém hostitele přímo i nepřímo prostřednictvím jiných buněk (Kostovcikova, 2019). Navázáním na střevní epitel mohou mikroby regulovat rovnováhu odpovědí střevních T-lymfocytů. V závislosti na konkrétním mikrobu mohou indukovat buď regulační T-lymfocyty, nebo prozánětlivé Th17 (Kostovcikova, 2019). Th17 produkují silný prozánětlivý cytokin IL-17, který vede k poškození tkáně a podílí se na patogenezi zánětlivých a autoimunitních onemocnění (Lee, 2017). Naproti tomu regulační T-lymfocyty produkují protizánětlivý cytokin, IL-10, k potlačení nadměrných imunitních reakcí za účelem ochrany hostitele (Lee, 2017). Regulační T-lymfocyty hrají ústřední roli při udržování imunitní tolerance vůči vlastním antigenům a usnadňují opravu

tkání. Střevní mikrobiota ovlivňuje diferenciaci T-lymfocytů prostřednictvím produkce bakteriálních metabolitů, jako jsou SCFA a polysacharid A (Shi, 2017). Bezmikrobní myši mají nerovnováhu pomocných T-lymfocytů, snížený počet regulačních T-lymfocytů, chybí u nich Th17 buňky a mají změněný poměr mezi Th1 a Th2 se zvýšenou Th2 odpovědí (Lee, 2017).

2.1.3 Mechanismy komunikace střevní mikrobioty

2.1.3.1 Osa mozek-střevo

Komunikace mezi střevní mikrobiotou a mozkem se nazývá osa mozek-střevo a hraje hlavní roli v zajišťování neurologického vývoje, funkce a psychického zdraví. Mikrobiota gastrointestinálního traktu ovlivňuje lidské chování a může zapříčinit patofyziologická mentální onemocnění. Pojem osa střevo-mozek bývá rozšiřována na osu mikrobiom-střevo-mozek, jelikož tento název více zdůrazňuje důležitost mikrobiomu v této regulaci. Změny v obousměrných interakcích mezi mozkem a střevní mikrobiotou se podílejí na patogenezi dobře známých poruch mozku a gastrointestinálního traktu. Z poruch gastrointestinálního traktu se jedná o syndrom dráždivého tračníku (IBS), idiopatické střevní záněty a další poruchy, které mohou být spojeny s dysregulovanou komunikací mezi mozkem a střevem, jako je obezita a mentální anorexie (Kennedy, 2017). Změny v interakci osa-střevo-mozek také působí jako možný mechanismus v patofyziologii několika mozkových poruch, včetně poruch autistického spektra, Parkinsonovy choroby, poruch nálady a chronické viscerální bolesti (Mayer, 2015). Na správném fungování osy mikrobiom-střevo-mozek se podílí mnoho systémů, např. CNS, sympatické a parasympatické větve autonomního nervového systému, enterický nervový systém, neuroimunitní a neuroendokrinní systém (Badawy, 2017). Neuroendokrinní řízení je zprostředkováno osou hypothalamus-hypofýza-nadledviny. Interakce mezi gastrointestinálním traktem a mozkem je zprostředkována eferentními a aferentními nervy (Kennedy, 2017). Pomocí těchto interakcí CNS reguluje sekreční a senzorické funkce a peristaltiku střev.



Obrázek 4: Prostředky komunikace mezi střevní mikrobiotou a mozkem (upraveno dle Wang, 2016)

Mikrobiom má schopnost ovlivňovat nervovou funkci přímo nebo nepřímo pomocí vitaminů, neurotransmiterů, hormonů, regulátorů imunitního systému a neuroaktivních mikrobiálních metabolitů, jako jsou např. SCFA (Mayer, 2015). Je těžké zjistit, jak přesně tyto metabolity ovlivňují mozkové funkce, jelikož přítomnost BBB a další mechanismy brání jejich přímému přístupu k mozku. Experimentální data naznačují, že mikrobiom by mohl vysílat signály do mozku aktivací aferentních sensorických neuronů bloudivého nervu pomocí neuroimunitního a neuroendokrinního systému (Mohajeri, 2018). Cirkulující SCFA produkované střevní mikrobiotou ovlivňují integritu BBB zvýšením produkce proteinů těsného spojení claudinu a occludinu (Martin-Gallausiaux, 2021). Tato zvýšená integrita BBB omezuje vstup nežádoucích metabolitů do mozkové tkáně. Receptory pro rozpoznávání patogenních vzorů ovlivňují neuroimunitní funkci stimulací uvolňování cytokinů, jako jsou TNF α , IL-6 a IL-1 β produkované buňkami vrozené imunity, jako jsou dendritické buňky, makrofágy a neutrofilů (Mohajeri, 2018). Tyto cytokiny mohou procházet přes BBB a aktivovat mikroglie a neurony, což vede ke změně neurologické funkce, která může vést ke změně nálady a chování (Mohajeri, 2018).

Preklinické studie prokázaly účinky střevní mikroflóry na nociceptivní reflexy, krmení, emoční a sociální chování, stresovou reakci a neurochemické reakce v mozku (Mayer, 2015). Střevní mikrobiom je nezbytný pro normální sociální vývoj u myši a podílí se na vývojových poruchách mozku. Bezmikrobní myši měly přehnanou stresovou reakci ve srovnání s kontrolními zvířaty. Podávání probiotika *L. rhamnosus*

u myši snižovalo hladiny kortikosteronu vyvolané stresem a také snižovalo chování související s úzkostí (Mohajeri, 2018).

Nervová a hormonální komunikace umožňuje mozku a mikrobiotě regulovat činnost střevních buněk. Signály přicházející do mikrobioty a CNS a z nich jsou závislé na buňkách přenášejících signál, jako jsou enterochromafinní a dendritické buňky, které vylučují několik transmitterů, jako je serotonin, somatostatin, cholecystokinin a hormon uvolňující kortikoliberin (Rhee, 2009). Signály přenášené z CNS do střeva mohou přímo modulovat mikrobiální chování. Enterochromafinní buňky fungují jako senzory rozmanitosti mikrobů a mikrobiálních produktů v lidských střevech. Bakterie také mají neurotransmiterové receptory, jejichž stimulace může ovlivnit funkci a složení mikrobioty (Carabotti, 2015). Bakterie jsou schopné komunikovat s epiteliálními buňkami hostitele skrze oligopeptidy a monoaminy, které jsou svými vlastnostmi podobné neurotransmiterům nebo hormonům (El Aidy, 2016). Signalizace mezi různými typy buněk a mezi bakteriemi a epiteliálními buňkami vyžaduje přítomnost neurotransmiterů, jako je serotonin, somatostatin, dopamin, neuropeptid Y, peptid YY, cholecystokinin a faktor uvolňující kortikotropin (Holzer, 2014).

2.1.3.2 Masné kyseliny s krátkým řetězcem

Tvorba mastných kyselin s krátkým řetězcem je výsledkem komplexní souhry mezi stravou a střevní mikrobiotou v prostředí střevního lumenu. Doba průchodu tráveniny tlustým střevem silně ovlivňuje činnost střevní mikrobioty (Maukonen, 2015). SCFA jsou produkovány hlavně sacharolytickou fermentací sacharidů, které unikají trávení a absorpci v tenkém střevě. SCFA jsou konečnými produkty fermentace nestavitelných sacharidů získaných především z vlákniny (Morrison, 2016). Hlavními produkty jsou formiát, acetát, propionát (produkované bakteriemi z kmene *Bacteroidetes*) a butyrát (produkovaný bakteriemi kmene *Firmicutes*) (Stebel, 2020). Acetát, propionát a butyrát jsou slabé kyseliny. Za fyziologických podmínek se pH v tlustém střevě pohybuje od 5,5 do 6,7, takže většina SCFA je v ionizované formě a pro absorpci vyžaduje transportéry (Martin-Gallausiaux, 2021).

SCFA, a zejména butyrát, jsou důležitými substráty pro udržování epitelu tlustého střeva. Butyrát je hlavním zdrojem energie pro kolonocyty, primárním místem sekvestrace butyrátu v těle je střevní epitel (van der Beek, 2015). Množství energie získané z SCFA představuje až 10 % celkové energetické potřeby člověka (Maukonen, 2015). Mikrobiálně produkováné SCFA zvyšují zrání enterických neuronů

a střevní motilitu. Ve fyziologickém stavu butyrát podporuje buněčnou diferenciaci a inhibuje proliferaci. Má také potenciální protirakovinnou aktivitu prostřednictvím schopnosti indukovat apoptózu buněk rakoviny tlustého střeva (Martin-Gallausiaux, 2021). SCFA hraje důležitou roli při regulaci integrity epiteliální bariéry prostřednictvím koordinované regulace proteinů těsného spojení. Butyrát se podílí na udržování funkce střevní bariéry také tím, že stimuluje produkci hlenu, antimikrobiálních peptidů a snižuje oxidační stres tlustého střeva (Mohajeri, 2018). Butyrát moduluje tloušťku vrstvy hlenu chránící sliznici. V tlustém střevě je mucin 2 převládajícím mucinovým glykoproteinem produkovaným pohárkovými buňkami. Léčba butyrátem zvyšuje produkci mucinu 2 jak *in vitro*, tak v lidských biopsiích tlustého střeva (Martin-Gallausiaux, 2021). SCFA inhibují produkci prozánětlivých cytokinů a zvyšují zastoupení regulačních T-lymfocytů ve sliznici střeva (Wilson, 2019).

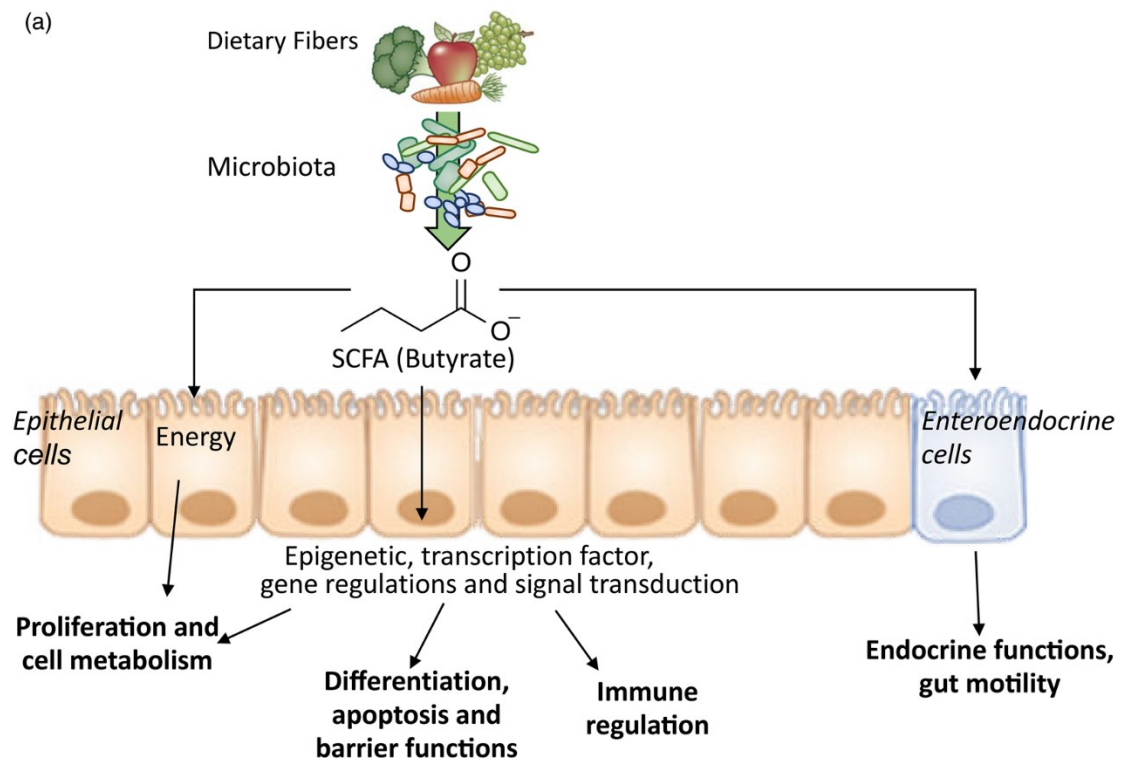
SCFA se také podílí na regulaci imunitního systému aktivací receptorů spřažených s G-proteinem, jako je receptor pro volné mastné kyseliny 3 a receptor pro volné mastné kyseliny 2, které jsou přítomny na více typech buněk včetně střevních epiteliálních buněk, makrofágů, dendritických buněk a žírných buněk (Mohajeri, 2018). Butyrát a propionát regulují genovou expresi inhibicí histonových deacetyláz (D'Amelio, 2018). Inhibice histonových deacetyláz může zvýšit vývoj a funkci regulačních T-lymfocytů, a proto by to mohl být jeden z mechanismů, kterými střevní mikrobiota zvyšuje tvorbu regulačních T-lymfocytů ve střevě (Huang, 2017). Park a kolegové navrhli, že za určitých podmínek mohou SCFA indukovat diferenciaci pomocných T-lymfocytů na Th1 a Th17, a tak zvýšit obranu hostitele proti patogenům (Park, 2015).

Acetát je nejhojněji produkovaná SCFA a je nezbytným kofaktorem pro růst jiných bakterií (Rowland, 2018). V lidském těle je acetát transportován do periferních tkání a využíván při metabolismu cholesterolu a lipogenezi, přičemž obojí se zdá být inhibováno propionátem (Morrison, 2016). Poměr propionátu a acetátu tedy může být důležitým determinantem příspěvku acetátu tlustého střeva k zásobám lipidů. Samotný propionát je schopen snížit viscerální tuk a tuk v játrech (Morrison, 2016). Zvýšení cirkulujících SCFA je spojeno se sníženou lipolýzou adipocytů a adipogenezí (Zaibi, 2010). SCFA také inhibují akumulaci lipidů stimulovanou inzulínem v adipocytech, což vede k tvorbě lépe reagujících malých adipocytů, a to je spojeno se sníženým množstvím zánětlivých infiltrátů tukové tkáně (Rowland, 2018). Navíc se zdá, že acetát stimuluje sekreci leptinu v adipocytech (Rowland, 2018). Leptin je důležitý

homeostatický protein tvořený v tukové tkáni, který reguluje energetickou rovnováhu a chuť k jídlu.

Propionát je také zdrojem energie pro epiteliální buňky. Butyrát a propionát hrají důležitou roli v glukoneogenezi. Přeměna propionátu na glukózu ve střevní glukoneogenezi přímo podporuje energetickou homeostázu snížením produkce glukózy v játrech (Rowland, 2018). Stále více se také předpokládá, že je důležitou molekulou v signalizaci sytosti díky interakci se střevními receptory (Rowland, 2018).

Bakterie také produkují meziproducty fermentace včetně fumarátu, sukcinátu a laktátu, které jsou normálně detekovány v nízkých hladinách ve stolici zdravých jedinců kvůli jejich rozsáhlému využívání jinými bakteriemi (Rowland, 2018). Například laktát je typicky konvertován buď na propionát nebo butyrát jinými bakteriemi, a je tedy přítomen v zanedbatelných hladinách ve stolici dospělých (Rowland, 2018).



Obrázek 5: Formy působení mastných kyselin s krátkým řetězcem na buňky (Martin-Gallausiaux, 2021) SCFA – mastné kyseliny s krátkým řetězcem

2.2 Vliv dysbiózy u vybraných onemocnění

Dysbióza střevního mikrobiomu je způsobena nerovnováhou mezi komenzálním a patogenním mikrobiomem. Komenzální mikrobiom reguluje dozrávání slizničního imunitního systému, zatímco patogenní mikrobiom způsobuje dysfunkci imunity, což má za následek rozvoj onemocnění (Shi, 2017). Narušení mikrobiálního ekosystému souvisí

s mnoha civilizačními chorobami. Vzhledem ke své obrovské složitosti a vysoké interindividuální variabilitě je mikrobiota stále z velké části nedefinovaná z pohledu rozsahu jejího příspěvku k fyziologii člověka a tolerovatelné variace složení, při nichž jsou stále zachovány normální funkce (Enck, 2016). Udává se, že dysbióza má významnou roli v patogenezi střevních poruch, jako jsou idiopatické střevní záněty a syndrom dráždivého tračníku, a mimostřevních poruch včetně autoimunitních onemocnění, alergií, astmatu, diabetu 1. typu, kardiovaskulárních onemocnění, metabolického syndromu a obezity (Mohajeri, 2018). V mnoha z těchto stavů zahrnují mechanismy vedoucí k rozvoji onemocnění jako klíčový vzájemný vztah mezi mikrobiotou tlustého střeva, jejich metabolickými produkty a imunitním systémem hostitele (Carding, 2015). Mikrobiota je také rozdílná u pacientů s neurodegenerativními poruchami, jako jsou například Alzheimerova porucha, poruchy autistického spektra, Parkinsonova nemoc, roztroušená skleróza, úzkost, bipolární porucha, deprese, schizofrenie.

Hlavní přístup ke studiu změn ve složení střevní mikrobioty ve vztahu k onemocnění se opíral především o fylogenetickou charakterizaci mikrobioty nemocných jedinců ve srovnání se zdánlivě zdravými jedinci. Protože však kromě změn ve složení střevní mikrobioty souvisejících s věkem existují podstatné interindividuální a intraindividuální rozdíly, je obtížné stanovit přesné vztahy mezi lidským zdravím a přítomností a relativním množstvím specifických mikrobiálních společenství. V budoucnu může být možné využít specifické změny v kompoziční diverzitě nebo dokonce funkční diverzitě jako biomarkery pro zdraví nebo konkrétní onemocnění (Carding, 2015). Pravděpodobně nejsilnější důkaz o přímé účasti střevní mikrobioty v patogenezi onemocnění pocházejí ze studií využívajících bezmikrobní myši.

2.2.1 Idiopatické střevní záněty

Idiopatické střevní záněty jsou chronická onemocnění poškozující tkáň v průběhu celého trávicího traktu, zejména střeva. Jejich příčina není známa, pravděpodobně se jedná o autoimunitní proces s genetickým základem, který je spuštěn zevním prostředím, např. infekcí. V důsledku stimulace imunitního systému je část střeva zničena. IBD bývá u pacientů diagnostikována ve věku 15–35 let, nebo 50–70 let, ale může člověka postihnout v kterémkoli věku. IBD postihuje obě pohlaví přibližně stejně často. IBD se dělí na Crohnovu nemoc (CD) a ulcerózní kolitidu (UC). Příznaky CD a UC jsou velmi podobné. Zánět střevní sliznice u IBD je charakterizován epizodami

bolestí břicha, průjmů, krvavé stolice, úbytku hmotnosti a přílivu neutrofilů a makrofágů, které produkují cytokiny, proteolytické enzymy a volné radikály, což vede k zánětu a ulceraci (Guan, 2019). Aktivní zánět bývá spojen se zvýšenou hladinou zánětlivých markerů v séru (např. CRP) a ve stolici (např. kalprotektin) (Guan, 2019).

Pacienti s IBD mají rozdílné složení střevní mikrobioty oproti zdravým jedincům, není ale jasné, zda je to primární defekt podílející se na etiopatogenezi IBD, nebo je to následek střevního zánětu. Studie na zvířatech prokázaly, že střevní mikroflóra hraje v patogenezi IBD prozánětlivou i protizánětlivou roli a ve většině zvířecích modelů kolitidy je střevní mikroflóra nepostradatelná pro řízení patogeneze (Ni, 2017). U člověka je však obtížné prokázat definitivní vztah příčiny a účinku mezi střevní mikrobiotou a IBD (Ni, 2017). Na základě studií na modelech infekce u lidí i zvířat je nepravděpodobné, že by jedna infekce způsobila nebo spustila IBD u lidí. Střevní mikrobiota ale jednoznačně podporuje rozvoj IBD (Guan, 2019). Přítomnost *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* a adherentně invazivní *Escherichia coli* (AIEC) je zvýšena u pacientů s CD, přítomnost *Clostridium difficile* je zvýšená jak u pacientů s CD, tak u pacientů s UC (Guan, 2019). Zvýšený počet slizničních bakterií a snížení protizánětlivých komenzálních bakterií druhu *Faecalibacterium prausnitizii* se nachází také u pacientů s CD (Guan, 2019).

Imunologická dysregulace u IBD je charakterizována poškozením epitelu, expanzí zánětu řízenou střevní mikrobiotou, velkým počtem buněk infiltrujících se do lamina propria, včetně T-lymfocytů, B-lymfocytů, makrofágů, dendritických buněk a neutrofilů, a selháním imunitní regulace při kontrole zánětlivé reakce (Guan, 2019). Aktivované buňky lamina propria produkují vysoké hladiny prozánětlivých cytokinů v lokální tkáni a cytokinů dráhy IL-23/Th17 (Abraham, 2009).

Prozánětlivé cytokiny, vylučované během střevního zánětu, jako je TNF nebo IFN- γ , mohou zvýšit permeabilitu epitelu regulací těsných spojení a podporou apoptózy (Guan, 2019). IFN- γ zvyšuje paracelulární permeabilitu a indukuje endocytózu transmembránových proteinů těsného spojení. U pacientů s IBD byla zjištěna zvýšená permeabilita pro makromolekuly (Guan, 2019). Vysoká apoptotická rychlost epiteliálních buněk také vede ke snížení funkce epiteliální bariéry pozorované u IBD. Rychlost apoptózy je zvýšena u mírně až středně zaníceného tlustého střeva u CD a UC. Apoptóza také umožňuje ztrátu iontů a vody a vstup malých antigenů. Střevní epitel je zodpovědný za transport elektrolytů a přerušovaný transport elektrolytu může vést k průjmu. Přibližně

50 % pacientů s CD a téměř 100 % pacientů s UC má jako jeden z hlavních symptomů průjem (Guan, 2019).

Je široce přijímáno, že CD je způsobena příliš agresivní Th1 imunitní odpovědí a nedávno byla zjištěna nadměrná aktivace dráhy IL-23/Th17 na bakteriální antigeny u geneticky predisponovaných jedinců (Abraham, 2009). Výsledná infiltrace granulocytů a makrofágů do střeva vede k uvolnění enzymů, reaktivních kyslíkových meziproductů a prozánětlivých cytokinů, které všechny způsobují diskontinuální ulceraci a zánět střevní stěny, často včetně granulomů (Guan, 2019). Naopak, UC je obvykle považována za „Th2-like“ onemocnění (Guan, 2019).

Mikrobiom má velký vliv na expresi široké škály lidských genů. Polymorfismus jednoho genu může ovlivnit diverzitu bakteriální populace ve střevě (Janeckova, 2019). Mnoho genetických mutací spojených s IBD souvisí s imunitní funkcí a konkrétně s interakcemi mezi imunitním systémem a mikrobiomem. Tyto geny zahrnují *Nod2*, *Atg16ll* a *Card9* (Cohen, 2019). Analýza genů a genetických lokusů identifikovaných u IBD ukazuje, že několik determinant hraje důležitou roli při udržování střevní homeostázy, jako je funkce epiteliální bariéry, vrozená slizniční obrana, imunitní regulace, migrace buněk, autofagie, adaptivní imunita a metabolické dráhy spojené s buněčnou homeostázou (Cohen, 2019). Permeabilita epiteliální bariéry umožňuje mikrobiální invazi, která je rozpoznána vrozeným imunitním systémem, který pak spouští vhodné tolerogenní, zánětlivé a restituční reakce sekrecí extracelulárních mediátorů, které rekrutují další buňky, včetně buněk adaptivní imunity (Guan, 2019).

Nod2 je prvním genem, o kterém bylo zjištěno, že souvisí s Crohnovou nemocí, který je u pacientů s CD často zmutován a vyskytuje se asi u jedné třetiny pacientů (Guan, 2019). *Nod2* je exprimován střevními epiteliálními buňkami, funguje jako obranný faktor proti intracelulárním bakteriím a přispívá k imunitní odpovědi na komenzální mikroby (Glassner, 2020). *Nod2* se tedy podílí na regulaci patogenních i komenzálních bakterií. *Nod2* kóduje receptor pro rozpoznávání patogenního vzoru, který interaguje s peptidoglykanem nacházejícím se v grampozitivních i gramnegativních bakteriích. NOD2 dokáže rozpoznat nejmenší bioaktivní fragment peptidoglykanu nacházející se v buněčné stěně gramnegativních i grampozitivních bakterií nazývaný muramyl dipeptid (Guan, 2019). V myších modelech kolitidy měly myši s deficitem *Nod2* změněný mikrobiom se zvýšenou náchylností ke kolitidě ve srovnání s myši divokého typu (Glassner, 2020). U myši s mutací v genu *Nod2* je zvýšená náchylnost ke kolitidě (Guan, 2019). U lidských subjektů jsou mutace v *Nod2* spojeny se snížením hladin

protizánětlivého cytokinu IL-10 (Glassner, 2020). Pacienti s mutacemi genu *Nod2* mají mikrobiotu, která se vyznačuje sníženou četností rodu *Faecalibacterium* a zvýšenou četností rodu *Escherichia* (Glassner, 2020). *Nod2* se také účastní iniciace autofagie. Autofagie je recyklační proces zahrnující degradaci cytosolického obsahu a organel, odstranění intracelulárních mikrobů a odolnost proti infekci. Stimulace muramyl dipeptidem může aktivovat proces autofagie vedoucí k zadržení intracelulárních bakterií v autofagosomech a následné kontrole infekce (Guan, 2019).

V některých případech není možné mezi pacienty rozlišit CD a UC. Ačkoli neexistuje žádný specifický test pro diagnostikování CD nebo UC, k jejich diagnostice se používají rentgenové vyšetření gastrointestinálního traktu s využitím barya, endoskopie, kolonoskopie, sigmoidoskopie, radiologické testy, vyšetření stolice, kompletní krevní obraz a odběr vzorků gastrointestinálního traktu (Seyedian, 2019). Po pozorování počátečních příznaků onemocnění by měl být okamžitě proveden endoskopický test k potvrzení konečné diagnózy. Je nutné vyšetřit fekální kalprotektin, jelikož jeho zvýšení na 81-91 % může naznačovat rozvoj onemocnění (Guan, 2019). Pravděpodobnost IBD naznačuje také zvýšení laktoferinu až o 80 % (Seyedian, 2019).

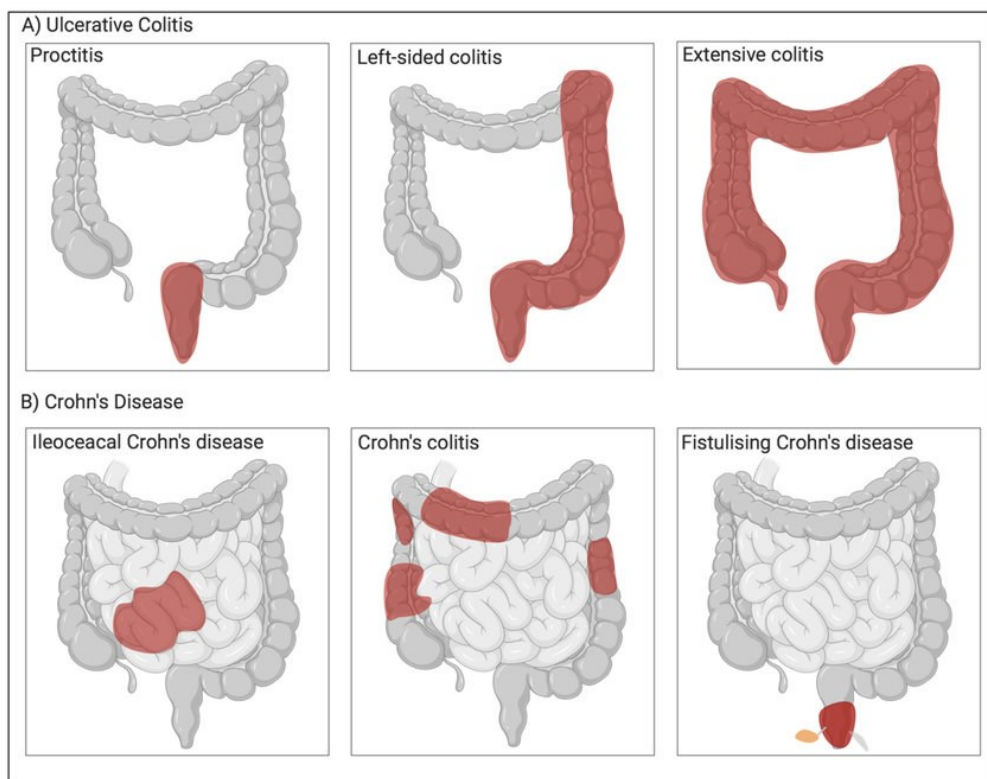
2.2.1.1 Crohnova nemoc

Crohnova choroba může postihovat všechny části gastrointestinálního traktu, nejčastěji ale terminální část tenkého střeva. Zánět má charakter segmentálního postižení, zánětlivé a zdravé úseky se střídají (Obr. 6). Pro CD je typický transmurální zánět, kdy je zánětem postižená celá stěna střeva. Kolem konečníku se mohou vyskytovat fisury, perianální abscesy a píštěle. Další častou komplikací jsou stenózy různých částí trávicí trubice. CD vykazuje histologicky ztlustělou submukózu, ulcerace a granulomy (Guan, 2019). CD doprovází řada extraintestinálních symptomů onemocnění, které postihují klouby, oči, kůži, sliznice, ledviny, játra a skelet. U CD je velmi častá malnutrice, protože tenké střevo je zodpovědné za vstřebávání živin (Seyedian, 2019). CD může také zvyšovat riziko rakoviny tlustého střeva, což je důvod, proč lidé žijící s tímto onemocněním musí pravidelně podstupovat kolonoskopii. Aby bylo možné zavést nejlepší léčbu CD, měly by být identifikovány oblasti těla postižené onemocněním.

2.2.1.2 Ulcerózní kolitida

Ulcerózní kolitida postihuje kontinuálně část tlustého střeva nebo celé tlusté střevo a rektum (Guan, 2019). UC se dle místa postižení dělí na proktitidu, kdy zánět postihuje konečník, levostrannou kolitidu se zánětem rozšířeným od konečníku

až po slezinné ohbí tračnicku a extenzivní kolitidu postihující celé nebo téměř celé tlusté střevo (Obr. 6). Zánět u UC je z histologického hlediska omezen na sliznici a submukózu, nepostihuje celou střevní stěnu jako je tomu u CD. Hlavním příznakem bývá průjem s příměsí krve a hlenu a tzv. tenesmy neboli bolestivé nucení na stolicí. Kolem tlustého střeva lze nalézt malé vřídky. Pokud se UC zhorší, mohou se ve stěně střeva vyvinout polypy. Jedním z nejvýraznějších příznaků UC je těžký zánět vrstev hlenu tlustého střeva a také těžký zánět konečníku, který se může rozšířit do hlubších oblastí střeva (Guan, 2019). Může také ovlivnit svalovou vrstvu tlustého střeva a v důsledku toho se snižuje počet střevních pohybů. Další závažnou komplikací, která ohrožuje pacienta s UC na životě, je toxický megakolon. Při něm dochází k rozšíření určitého úseku střeva a zástavě vylučování stolice, která má za následek bolesti břicha, nafouknutí břicha, nevolnost a zvracení (Seyedian, 2019). Bakterie a toxické produkty, které začnou při hromadění střevního obsahu pronikat přes střevní stěnu do dutiny břišní, pak zapříčiňují zánět pobřišnice, otravu krve a šokový stav (Seyedian, 2019).



Obrázek 6: Možné umístění zánětu u idiopatických střevních zánětů (Yeshi, 2020)

2.2.2 Kolorektální karcinom

Kolorektální karcinom (CRC) je velmi časté zhoubné onemocnění v západním světě a navzdory pokroku v chirurgii, chemoterapii a screeningu je stále druhou hlavní příčinou úmrtí na rakovinu v této části světa (Raskov, 2014). Střevní mikrobiom hraje

významnou roli i u kolorektálního karcinomu. V tomto případě ale nemusí být nejdůležitějším faktorem dysbióza, ale spíše produkty interakce mezi stravou a mikrobiomem. Předpokládá se, že strava s vysokým obsahem bílkovin vede k produkci karcinogenních metabolitů mikrobiotou tlustého střeva, což může vést k indukci neoplazie v epitelu tlustého střeva (Carding, 2015).

Některé ze změn pozorovaných v mikrobiomu u CRC jsou pozorovány také u IBD. Chronický zánět představuje rizikový faktor u karcinomu tlustého střeva a konečníku (Janeckova, 2019). Studie porovnávající bakteriální komunity v nádorech u lidí ve vztahu k nezahrnuté sousední tkáni tlustého střeva identifikovaly rod *Fusobacterium* jako nejvíce obohacený taxon v místě nádoru (Wlodarska, 2015). Bakterie z rodu *Fusobacterium* napadají kolonocyty a také se často účastní IBD. Protože IBD je jedním z největších rizikových faktorů pro rozvoj CRC, tato bakterie spojená se zánětem se může ukázat jako důležité spojení mezi těmito chorobami. Novější studie spojují rod *Fusobacterium* s kolorektálními adenomy, prekuzory CRC, poskytují důkaz, že tento rod je přítomen, nebo možná i přímo zapojen, do tumorigenního procesu (Kostic, 2013). Zavedení lidských izolátů druhu *Fusobacterium nucleatum* z tlustého střeva do geneticky vnímavých myší vedlo k urychlení střevní tumorigeneze (Kostic, 2013).

2.2.3 Syndrom dráždivého tračníku

Syndrom dráždivého tračníku je funkční porucha střev charakterizovaná bolestí břicha nebo diskomfortem, nepravidelností stolice a nadýmáním. Kromě toho je IBS často spojena s dalšími komorbiditami jako je migréna, psychiatrické stavy včetně deprese a úzkosti a viscerální citlivostí (Enck, 2016). Patogeneze viscerální hypersenzitivity, která se projevuje u IBS, je považována za důsledek dysbiózy ve smyslu dysregulace osy mozek-střevo (Carding, 2015). Odhaduje se, že přibližně 10 % světové populace a 15 % populace v západním světě trpí IBS (Raskov, 2016).

Několik studií prokázalo souvislost mezi IBS a předchozími gastrointestinálními infekcemi bakteriálního, virového nebo jiného původu. Rizikovými faktory pro rozvoj postinfekčního IBS jsou ženské pohlaví, nižší věk, závažnost počáteční infekce a premorbidní psychické stavy. U 36 % jedinců, kteří prodělali infekci způsobenou druhem *Campylobacter jejuni*, nebo sérotyp bakteriálního druhu *Escherichia coli* O157:H7, přetrvávají příznaky IBS i 2 roky po infekci způsobené přetrvávajícím zvýšením permeability střeva (Raskov, 2016). Tato podskupina IBS

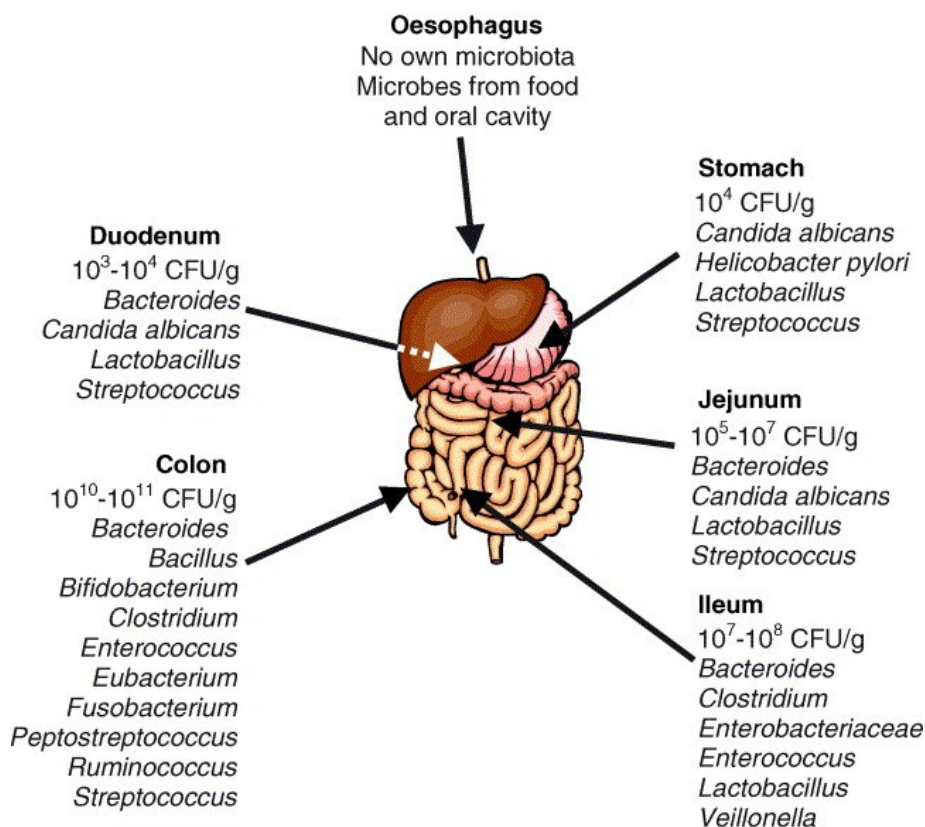
se nazývá postinfekční IBS (IBS-PI). Dalšími podtypy IBS jsou IBS-D vyznačující se průjmem, IBS-C s typickou zácpou, nebo smíšený typ IBS-M se střídavým průjmem a zácpou (Enck, 2016). U všech podskupin IBS je pozorován zánět nízkého stupně (Raskov, 2016).

Ačkoli etiologie IBS zůstává do značné míry nejasná, chápání potenciálních mechanismů podílejících se na onemocnění postupuje. Rostoucí důkazy naznačují, že u IBS, epiteliální bariéra, střevní mikrobiota, potravinové antigeny a žlučové kyseliny vyvolávají abnormální reakce v klíčových regulátorech senzomotorických funkcí, včetně osy hypotalamus–hypofýza–nadledviny, imunitního systému, osy mozek–střevo a enterického nervového systému (Enck, 2016). Dysbióza a následná dysfunkce v ose mozek–střevo určuje změny ve střevní motilitě a sekreci přispívající k viscerální hypersenzitivitě a buněčným alteracím enteroendokrinního systému a imunitního systému (Carabotti, 2015).

Experimenty na zvířecích modelech ukázaly, že kolonizace bezmikrobních zvířat mikrobiotou od pacientů s IBS může vyvolat viscerální hypersenzitivitu, zhoršit propustnost střev a změnit dobu průchodu gastrointestinálním traktem, což ukazuje na důležitost a možnou etiologickou roli mikrobiomu u IBS (De Palma, 2014). Častým dysbiotickým nálezem u IBS je zvýšení *Streptococcus spp.* a snížením bakterií kmene *Bacteroidetes*, tj. celkovým snížením prospěšných bakterií a zvýšením patogenních druhů (Rajilić-Stojanović, 2011). Významnou roli může hrát také zvýšení rodu *Clostridium*, která neprodukuje butyrát a odbourává mucin, stejně jako snížení probiotického rodu *Bifidobacterium* (Raskov, 2016).

2.3 Složení mikrobiomu gastrointestinálního traktu

Mikrobiom kolonizuje celou délku střeva s celkovým počtem mikrobů narůstajícím od dvanáctníku k distálnímu tračníku, kde se mikrobiální zátěž odhaduje na 10^{12} mikrobů na gram stolice (Wlodarska, 2015). Dvanáctník obsahuje méně než 10^5 bakterií na gram lumenálního obsahu, tento počet se zvyšuje a v kyčelníku dosahuje až na 10^7 bakterií na gram lumenálního obsahu s dalším nárůstem v tlustém střevě (Wlodarska, 2015). Pochopení toho, jak se mění celková bakteriální zátěž během IBD, může být zajímavým aspektem patogeneze onemocnění, protože zvýšené množství bakterií spojených se sliznicí může řídit střevní zánět a může vysvětlovat smíšené reakce pacientů na léčbu (Obr. 7).



Obrázek 7: Hlavní zástupci střevního mikrobiomu (Isolauri, 2004) CFU-jednotky tvořící kolonie

Předpokládá se, že hustota mikrobiální kolonizace střeva je řízena především gradienty pH, kyslíku, antimikrobiálních peptidů a také rychlostí průchodu střevem. pH je nejnižší ve dvanáctníku (pH 6,4–6,6), postupně se zvyšuje v kyčelníku (pH 7,3–7,5), klesá ve slepém střevě (pH 5,7–6,4) a znovu postupně se zvyšuje směrem k distálnímu tračníku (pH 6,6–7,1) (Obr. 8) (Włodarska, 2015). Po celé délce tlustého střeva existuje kyslíkový gradient, s hladinami nejvyššími v dvanáctníku a klesajícími do anaerobního prostředí v distálním tračníku (Obr. 8). Mírně kyselé pH a okysličené prostředí horní části tenkého střeva limituje kolonizaci na bakterie tolerantní vůči kyslíku a kyselému prostředí, zejména z rodů *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Veillonella* (Zoetendal, 2012). V tlustém střevě je také kyslíkový gradient, přičemž kyslík je produkován epitelem a spotřebováván mikroorganismy žijícími nejbližší sliznici.

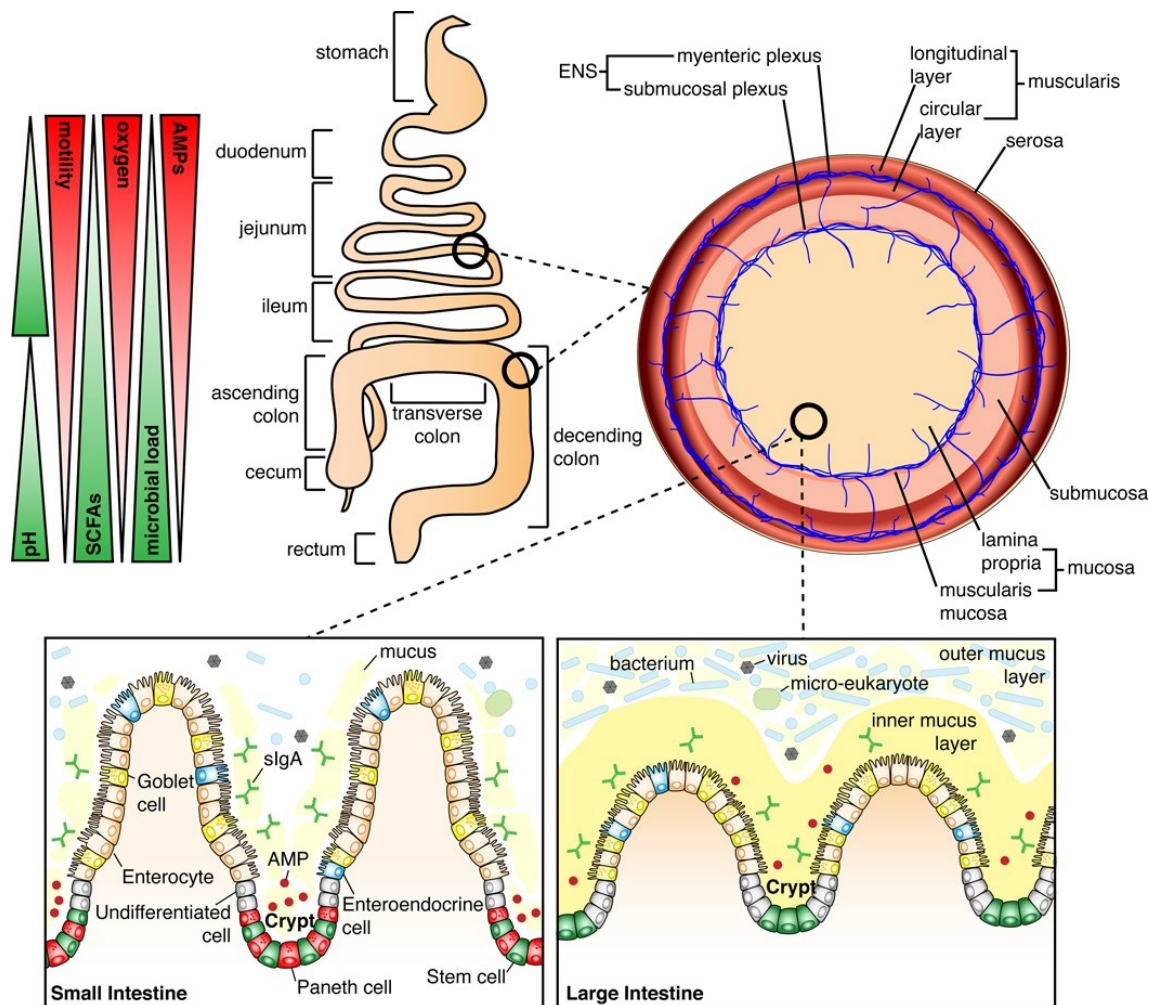
Chronický zánět spojený s IBD pravděpodobně vede ke zvýšeným hladinám kyslíku ve střevě prostřednictvím zvýšeného průtoku krve a imunologických reakcí, jako je uvolňování reaktivních forem kyslíku (Włodarska, 2015). Zvýšené hladiny kyslíku ovlivňují mikrobiální složení selekcí více aerotolerantních bakterií a potlačením růstu obligátně anaerobních bakterií. Pacienti s dosud neléčeným IBD mají v době diagnózy změněnou bakteriální komunitu spojenou se sliznicí, která upřednostňuje aerotolerantní

druhy. Tato asociace aerotolerantních druhů s IBD by mohla být použita jako časný diagnostický nástroj (Rigottier-Gois, 2013).

Střevní motilita se podobně jako kyslíkový gradient také snižuje podél délky střevního traktu, nejvyšší rychlost je dokumentována ve dvanáctníku a lačníku. Změny ve střevní motilitě mají důležitý dopad na závažnost IBD. Střevní vzplanutí u CD je spojeno se snížením motility tenkého střeva a zvýšením hladiny zánětlivých markerů, jako je C-reaktivní protein a kalprotektin (Wlodarska, 2015).

Antimikrobiální peptidy, které jsou vylučovány buňkami střevního epitelu včetně enterocytů, pohárkových a Panethových buněk, omezují přístup komenzálů i patogenů k epitelu. AMP jsou skupinou konzervovaných malých kationtových proteinů zadržovaných ve vrstvě hlenu. Mohou se vázat buď se záporně nabitými mikrobiálními buněčnými membránami, nebo enzymaticky napadat buněčnou stěnu (Osadchiy, 2019).

Panethovy buňky tak prostřednictvím sekrece AMP formují střevní mikrobiotu a jejich dysfunkce je spojována s Crohnovou chorobou (Ni, 2017). Sekrece AMP je závislá na autofagii, genetické narušení autofagie zastavuje sekreci AMP (Glassner, 2020). V tlustém střevě Panethovy buňky chybí, ale sekrece AMP je zprostředkována enterocyty (Obr. 8). Mikrobiom tlustého střeva kóduje geny zajišťující rezistenci vůči specifické třídě AMP. Tato rezistence propůjčuje mikrobiální komunitě odolnost během zánětu, kdy jsou hladiny AMP vysoké, což po střevní infekci umožňuje rychlejší zotavení mikrobioty (Wlodarska, 2015).



Obrázek 8: Faktory ovlivňující mikrobiální flóru v gastrointestinálním traktu (Włodarska, 2015)

Ústní dutina má bohatou a rozmanitou mikrobiotu tvořenou zejména rody *Streptococcus*, *Gemella*, *Neisseria* a *Prevotella* (Lloyd-Price, 2016). Existují také bakteriální skupiny spojené s onemocněními dutiny ústní, jako je kaz, periodontální onemocnění a zápach z úst. Nárůst spotřeby jednoduchých sacharidů v lidské stravě souvisí se zvýšením kazivosti v důsledku fermentační aktivity a kyselé produkce orální mikrobioty, zejména druhem *Streptococcus mutans* a rody *Veillonella* a *Lactobacillus* (Requena, 2021). Kyselé pH žaludku zabraňuje růstu bakterií, mikrobiální koncentrace jsou proto obvykle pod 10^4 bakterií na ml obsahu žaludku. Nejhojnějšími rody jsou *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Atopobium* a druh *Fusobacterium nucleatum*, které pocházejí z dutiny ústní a představují přechodnou kyselino vzdornou mikrobiotu (Requena, 2021). Navzdory jasným důkazům, že druh *Helicobacter pylori* je lidský patogen, existují studie, které naznačují, že by mohl být také považován za komenzální bakterii vzhledem k tomu, že je typicky přítomen u zdravých

jedinců, aniž by vyvolával příznaky nebo onemocnění, a že moduluje slizniční imunitní odpověď (Bravo, 2018). V gastrointestinálním traktu je tenké střevo nejdelší oblastí a má největší změny v podmínkách prostředí, což má za následek různé mikrobiální koncentrace. Studie mikrobioty v tračníku odhaluje hojnost řádů *Lactobacillales* a *Clostridiales*, rodů *Veillonella* a *Streptococcus* a v menší míře rody *Ruminococcus* a *Bacteroides* (Requena, 2021). Tlusté střevo má nejvyšší mikrobiální hustotu v lidském těle, dosahuje 10^{11} mikroorganismů na ml střevního obsahu (Obr. 8).

2.3.1 Složení fekální mikrobioty

Mikrobiota v tlustém střevě a stolici je extrémně rozmanitá a na základě odhadů z kultivačních a molekulárních studií zde žije celkem více než 1200 převládajících bakteriálních druhů (Maukonen, 2015). Každý jednatel ukrývá alespoň 160 takových druhů (Rajilić-Stojanović, 2007). I když lidský gastrointestinální trakt obsahuje obrovské množství mikrobů, má pouze omezenou diverzitu na úrovni kmene. V lidském střevě byly zjištěny mikroby ze sedmi bakteriálních kmenů: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Verromicrobia* a jednoho kmene archea *Euryarchaeota* (Tap, 2009). Většinu populace gastrointestinálního traktu tvoří bakterie kmenů *Firmicutes* (čeledi *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*), *Bacteroidetes* (čeledi *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* a *Rikenellaceae*) a *Actinobacteria* (čeledi *Bifidobacteriaceae*, *Coriobacteriaceae*) (Maukonen, 2015).

Fekální mikrobiotě dominují bakterie z čeledí *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Bacteroidaceae* a *Prevotellaceae*, které dohromady tvoří 60–80 % fekálních bakterií zdravých dospělých (Eckburg, 2005). Bakterie patřící do čeledi *Lachnospiraceae* tvoří 10–45 % a *Ruminococcaceae* 16–27 % všech fekálních bakterií, jak bylo zjištěno pomocí metod založených na kvantitativní hybridizaci (Mueller, 2006). Mnoho zástupců čeledi *Lachnospiraceae* a *Ruminococcaceae* je polysacharolytických a produkuje butyrát (Maukonen, 2015).

Bakterie kmene *Bacteroidetes* tvoří 12–60 % všech fekálních bakterií v závislosti na tom, jaká metoda byla použita pro kvantifikaci této skupiny (Mueller, 2006). *Bacteroides spp.* jsou sacharolytické bakterie, které obsahují velké množství enzymů degradujících polysacharidy (Maukonen, 2015). Mají vynikající schopnost fermentovat jednoduché, složité cukry a polysacharidy a produkovat acetát a sukcinát jako hlavní metabolické konečné produkty (Maukonen, 2015). Většina druhů je navíc slabě proteolytická. Většina bakterií čeledi *Prevotellaceae* byla izolována z ústní dutiny a běžně

se vyskytují v oblasti úst ve studiích založených na kultivacích, zatímco pomocí molekulárních studií založených na DNA byli členové *Prevotellaceae* nalezeni také ve stolici (Maukonen, 2015).

Bifidobacterium spp. (0,5–6 %), rod *Lactobacillus* (<1–3 %) a bakterie z čeledi *Coriobacteriaceae* (1–5 %) jsou zastoupeny v menší míře mezi fekálními bakteriemi, ačkoli se vyskytují u většiny lidí (Mueller, 2006). Kromě toho existuje několik bakterií, které obvykle tvoří <1–2 % celkové fekální mikrobioty zdravých dospělých jedinců, jako jsou čeledi *Clostridiaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* a druh *Akkermancia muciniphila* a mnoho dalších (Rigottier-Gois, 2003). Kromě bakterií se v tlustém střevě nacházejí nízké hladiny virů, archeí (<1 %) a eukaryot (≤ 2 %) (Reyes, 2010).

2.3.2 Enterotypy

Shlukování střevní mikrobioty vedlo ke konceptu klasifikace jedinců podle enterotypů, který je založen na představě, že střevní mikrobiota se v průběhu času shromažďuje v relativně stabilním složení (Wong, 2017). Shlukování není řízeno věkem, pohlavím, národností ani indexem tělesné hmotnosti. Struktura lidské střevní mikroflóry je primárně určena interakcemi mezi různými bakteriálními rody. Jedním z faktorů, které určují enterotyp, mohou být dlouhodobé stravovací návyky. Existují tři shluky, z nichž každý byl charakterizován převahou jednoho rodu: *Bacteroides* (enterotyp 1), *Prevotella* (enterotyp 2) nebo *Ruminococcus* (enterotyp 3) (Ramirez, 2020). Enterotyp 1 je spojen s vysokou spotřebou živočišných bílkovin, aminokyselin a nasycených tuků (Wu, 2011). Enterotyp 2 bývá silně spojován se stravou bohatou na rostlinné sacharidy, zejména tedy vegetariánskou a veganskou stravou (Wu, 2011). Enterotyp 3 se vyznačuje stravou s vysokým obsahem rezistentního škrobu (Ubags, 2019). Enterotyp jedince může být použit k predikci reakce na konkrétní zásah a dále k personalizované výživě přizpůsobené střevnímu mikrobiálnímu profilu (Wong, 2017).

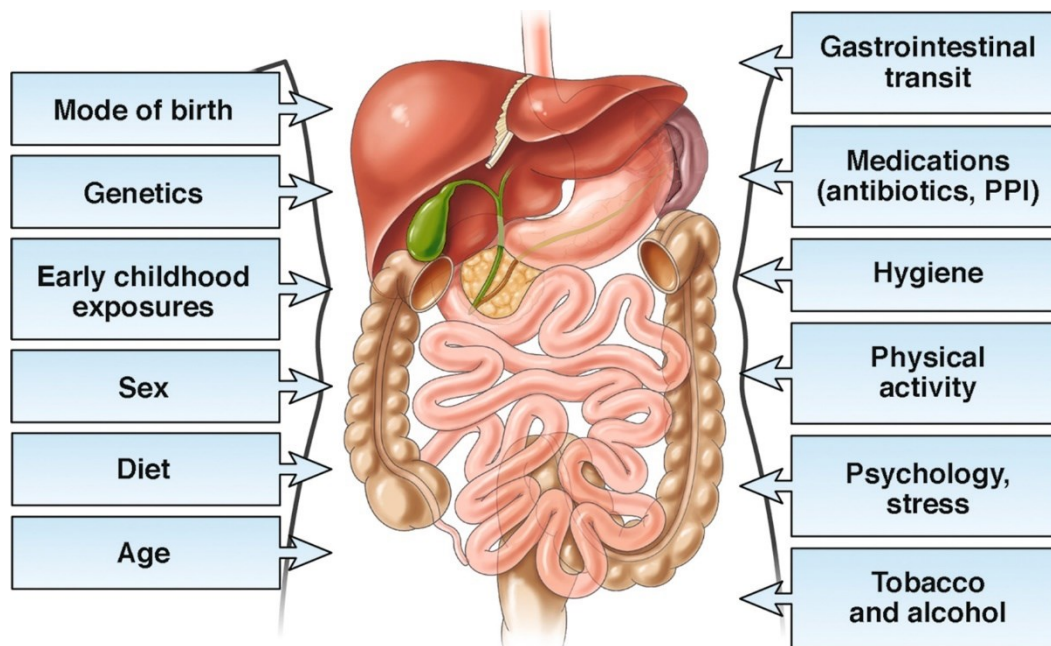
Strava obohacená o vlákninu s ovocem a zeleninou byla spojena se sníženým rizikem IBD, zatímco strava s vysokým obsahem tuku a masa byla spojena se zvýšeným rizikem. Konzumace vegetariánské stravy ve srovnání se stravou obsahující maso vede k odlišnému složení střevních mikrobů, zejména se zvýšeným množstvím prospěšných bakterií, které zase ovlivňují procesy zahrnuté v patogenezi několika chronických onemocnění (Moraes, 2019).

2.4 Faktory ovlivňující mikrobiom

Existují určité důkazy, které naznačují, že environmentální faktory, jako je časté užívání antibiotik, střevní infekce, strava a kouření cigaret, ovlivňují střevní mikrobiom a řídí imunitní aktivaci u subjektů geneticky náchylných k rozvoji IBD. Tvorba mikrobiomu je také velmi ovlivňována na začátku života, především způsobem porodu a kojením. Ačkoli byly provedeny studie k vyhodnocení účinku specifických faktorů prostředí na imunitní reakce a mikrobiotu na geneticky citlivých zvířecích modelech, studie na lidských subjektech jsou spíše omezené.

Vzhledem k typickému pozorování zvýšené diverzity mikrobiomů u zdravých jedinců byla vyslovena „hypotéza mizejícího mikrobiomu“, kdy trvale snížená diverzita střevních mikrobů ve vyspělých zemích může být příčinou vyšší míry chronických onemocnění ve srovnání s těmi, která jsou pozorována v rozvojových zemích a primitivních společnostech (Lloyd-Price, 2016). Tato ztráta rozmanitosti může být spojena s dietou s vysokým obsahem tuků, rafinovaného cukru a nízkým obsahem vlákniny. Humanizované myši po požívání takovéto stravy vykazují snížení mikrobiální diverzity, kterou lze obnovit návratem ke stravě bohaté na vlákninu (Sonnenburg, 2016). Hypotéza mizejícího mikrobiomu v některých ohledech představuje evoluci „hygienické hypotézy“ nebo „hypotézy starých přátel“.

Souvislost mezi nárůstem autoimunitních onemocnění a alergií a snížením výskytu infekčních onemocnění ve vyspělých zemích, rovněž související se zneužíváním antibiotik a nižší expozicí mikroorganismům, přispěla k představě, že nedostatek podnětů imunitního systému v počátečních fázích života ohrožuje schopnost rozpoznávat hrozby a kalibrovat úroveň mikrobiální tolerance (Requena, 2021). Hygienická hypotéza tvrdí, že nedostatek expozice celé řadě mikrobů u dětí může mít negativní vliv na rozvoj adaptivní imunitní odpovědi. Hygienická hypotéza vychází z pozorované negativní korelace mezi poklesem frekvence infekčních onemocnění a nárůstem výskytu alergických a autoimunitních onemocnění (Bach, 2021). Změna expozice mikroorganismům je připisována čistšímu životu, urbanizaci. Časový i geografický výskyt IBD se zdá být paralelní s industrializací a urbanizací společností.



Obrázek 9: Faktory ovlivňující složení střevního mikrobiomu (Shin, 2019)

2.4.1 Ovlivnění mikrobiomu antibiotiky

Antibiotika jsou nepostradatelnou léčbou infekčních nemocí a jejich zavedení dramaticky změnilo zdravotní péči a délku lidského života. Důkazy však naznačují, že užívání antibiotik v dětství je spojeno s rozvojem řady imunitně zprostředkovaných onemocnění, včetně alergií a IBD. Příjem antibiotik hluboce ovlivňuje složení a funkci střevní mikroflóry a může způsobit dlouhodobé nepříznivé účinky na hostitele (Zheng, 2020). Po léčbě antibiotiky se zdravé střevní komunity obecně po několika týdnech až měsících zotaví do předchozího stavu. Definice mikrobiálního zdraví tak explicitně nezahrnuje jeden statický stav, ale spíše dynamickou rovnováhu. Zdraví dobrovolníci léčení antibiotiky po dobu 1 týdne nebo méně vykazovali účinky na jejich mikrobiom, které přetrvávaly šest měsíců až dva roky po léčbě, včetně dramatické ztráty rozmanitosti i zastoupení specifických taxonů a regulace směrem ke zvýšení exprese genů antibiotické rezistence (Becattini, 2016). Antibiotika způsobují drastické snížení diverzity mikrobiomu. To může uvolnit cestu pro infekci patobionty, normálními členy mikrobiální komunity, kteří se při poruchách stávají škodlivými, jako je druh *Candida albicans* (Lloyd-Price, 2016).

Antibiotika mohou také narušit rovnováhu, která normálně existuje mezi různými druhy střevní mikroflóry. Například tím, že antibiotika způsobí snížení druhové diverzity, mohou vést k přemnožení patobiontů. Snížená diverzita nemusí nutně znamenat snížení celkového počtu bakterií. Když jsou bakterie citlivé na antibiotika eliminovány, množí

se bakterie odolné vůči antibiotikům a zaujímají jejich místo. Ve skutečnosti se může celková mikrobiální zátěž po léčbě antibiotiky zvýšit, i když je druhová diverzita snížena (Ramirez, 2020).

Vývoj mikrobiomu během raných fází života u lidí a myši je kritický a jeho narušení predisponuje k onemocnění v pozdějším dětství nebo dospělosti, zejména v případě alergických a metabolických syndromů (Becattini, 2016). Bylo zjištěno, že časné použití makrolidů u finských dětí vytvořilo mikrobiální profil charakterizovaný ztrátou bakterií z čeledi *Actinobacteriaceae* a zvýšením počtu bakterií z kmenů *Bacteroidetes* a *Proteobacteria*, indukci genů antibiotické rezistence a snížením hydroláz žlučových solí (Korpela, 2016). Takový profil pozitivně koreloval buď s pozdějším rozvojem astmatu, nebo se zvýšením indexu tělesné hmotnosti (Korpela, 2016).

Užívání antibiotik v letech před diagnózou bylo spojeno s rozvojem IBD a má se za to, že souvisí s účinky na komenzální mikrobiotu a imunitní regulaci u geneticky vnímavých subjektů. Ve zvířecím modelu měly neonatální *Nod2*-deficientní myši léčené amoxicilinem a poté dextranulfátem sodným k vyvolání kolitidy závažnější kolitidu a prokázaly opožděné obnovení mikrobiální diverzity po vysazení antibiotik ve srovnání s myšmi divokého typu (Goethel, 2019). Ve studiích na lidech použití antibiotik jednou nebo vícekrát během prvního roku života zvýšilo pravděpodobnost o 2,9, že bude IBD diagnostikováno v dětství (Shaw, 2010). U pacientů s IBD je pravděpodobnější, že dostali antibiotika během 2 až 5 let před diagnózou než zdravé kontrolní subjekty (Glassner, 2020). Jakékoli použití antibiotik bylo spojeno s poměrem pravděpodobnosti 1,74 pro pacienty s Crohnovou nemocí a 1,08 pro pacienty s ulcerózní kolitidou (Ungaro, 2014). Používání antibiotik zesiluje změny mikrobiomu pozorované u pacientů s CD (Glassner, 2020).

2.4.2 Ovlivnění mikrobiomu infekční gastroenteritidou

Další důkazy na podporu úlohy mikrobiomu u pacientů s IBD zahrnují účinek infekční gastroenteritidy u pacientů s IBD. V některých studiích bylo prokázáno, že prodělání infekční gastroenteritidy zvyšuje riziko následného rozvoje IBD o 40 % (Glassner, 2020). Infekční gastroenteritida bývá často léčena antibiotiky, což je také spojeno s rozvojem IBD a mohlo by přispět ke zvýšenému riziku IBD pozorovanému po infekční gastroenteritidě (Glassner, 2020).

Adherentně invazivní *Escherichia coli* jsou bakterie spojené s Crohnovou chorobou. Existuje vyšší prevalence AIEC u pacientů s CD ve srovnání se zdravými

subjekty (Small, 2016). AIEC se podílejí na patogenezi onemocnění, jsou prozánětlivé a mohou hrát ústřední roli při udržování chronického zánětu v reakci na další rizikové faktory CD, jako je akutní infekční gastroenteritida. CD je častější u jedinců vystavených akutní infekční gastroenteritidě způsobené rodem *Salmonella* a jinými střevními patogeny, někdy s dobou nástupu v řádu let po infekční epizodě (Glassner, 2020). Akutní infekční gastroenteritida vytváří zánětlivé prostředí ve střevě, které řídí expanzi AIEC a zhoršuje závažnost onemocnění. Nárůst závažnosti onemocnění přesně koreluje s nárůstem AIEC, protože blokování tohoto rozvoje senzibilizací AIEC na obranu hostitele také zlepšuje zdravotní stav hostitele (Small, 2016). Dlouhá doba mezi zotavením z akutní gastroenteritidy a nově vzniklým CD může umožnit cílené intervence ke zmírnění rizika CD u AIEC-pozitivních jedinců (Glassner, 2020). Akutní gastroenteritida moduluje hladiny AIEC v kolonizovaném střevě, a staví AIEC jako aktivní, avšak upravitelný modifikátor onemocnění v reakci na akutní infekční gastroenteritidu (Small, 2016).

Myši kolonizované AIEC, u kterých se rozvine infekční gastroenteritida v reakci na *Salmonella enterica* sérotyp *typhimurium*, mají horší výsledek ve srovnání se zvířaty bez AIEC, které byly vystaveny stejným infekčním stimulům (Small, 2016). Akutní infekční gastroenteritida způsobuje expanzi populace AIEC asociované se tkání. Předchozí kolonizace AIEC vede ke zvýšeným buněčným a prozánětlivým cytokinovým odpovědím ve slepém střevě po infekci způsobené druhem *S. typhimurium* (Glassner, 2020). Myši kolonizované AIEC měly také opožděné obnovení slizničního epitelu po zotavení z infekce *S. typhimurium* (Small, 2016).

2.4.3 Ovlivnění mikrobiomu stravou

Strava je důležitým environmentálním faktorem, který ovlivňuje rozvoj civilizačních onemocnění, jako jsou IBD, IBS a kolorektální karcinom. Změny ve stravě pohání mikroby, aby se přizpůsobili novému substrátu, a tak indukují hluboké změny v mikrobiomu, které by mohly zlepšit schopnost hostitele přizpůsobit se prostředí. Změny vyvolané dietními extrémami mohou přetrvávat po dlouhou dobu a odrážet tak stravu hostitele (Kostovcikova, 2019). Strava založená na živočišných bílkovinách vede ke zvýšenému množství bakterií tolerantních ke žlučovým kyselinám, včetně rodů *Alistipes*, *Bilophila* a *Bacteroides*, a ke snížení množství bakterií kmene *Firmicutes* (Kostovcikova, 2019). Naproti tomu rostlinná strava vede ke zvýšenému výskytu *Firmicutes* (Glassner, 2020). Strava s vysokým obsahem tuků vyvolává mikrobiální

dysbiózu, zvyšuje adipozitu a mírný zánět v tukové tkáni. Experimentální důkazy naznačují, že konzumace této stravy způsobila pokles počtu bakterií kmene *Bacteroidetes* a nárůst bakterií kmenů *Firmicutes* i *Proteobacteria* (Benítez-Páez, 2016). Transplantace střevní mikrobioty z obézních myši na bezmikrobní myši u nich vyvolala některé fenotypy spojené s obezitou (Murphy, 2015). Strava bohatá na nasycené tuky zvýšila populaci bakterií z rodu *Bacteroides*, *Bilophila* a druhu *F. prausnitzii*, zatímco nenasycené mastné kyseliny zvýšily počet bakterií mléčného kvašení rodu *Bifidobacterium* (Benítez-Páez, 2016).

Metabolický výdej mikrobiální komunity nezávisí pouze na dostupných substrátech, ale také na prostředí střeva, přičemž hlavní roli hraje pH (Włodarska, 2015). Sacharidy jsou fermentovány hlavně v proximálním tračníku, zatímco fermentace bílkovin probíhá hlavně v distálním tračníku. Sacharolytické bakterie jsou schopny produkovat SCFA, které mají lokální i systematické příznivé biologické účinky. Některé bakterie jsou také schopné rozkládat mucin. Široká škála bakterií má proteolytickou aktivitu. Metabolismus bílkovin však není pro hostitele tak příznivý jako metabolismus sacharidů, jelikož některé z konečných produktů metabolismu aminokyselin mohou být pro hostitele škodlivé (Włodarska, 2015). Biologická degradace proteinů, peptidů, aminokyselin, nestrávených zbytků bílkovin z potravy, a dalších dusíkatých sloučenin, jako jsou uvolněné epiteliální buňky, bakteriemi vede k produkci různých biologicky aktivních metabolitů, jako jsou mastné kyseliny s rozvětveným řetězcem, amoniak, sulfan, p-kresol, fenolové a indolové deriváty, které by mohly ovlivňovat životaschopnost a proliferaci epiteliálních buněk a tím ovlivnit funkci střevní bariéry a imunitní odpovědi (Kostovcikova, 2019). Kromě toho se dusičnany a dusitany nacházejí ve zpracovaném mase. Bylo prokázáno, že přítomnost těchto chemických sloučenin v tlustém střevě způsobuje zánět a poškození sliznice (Raskov, 2014). Volný amoniak je považován za nejtoxičtější z těchto látek, jelikož snadno absorbován kolonocyty, vyvolává zánět, zvyšuje rychlost proliferace a zvyšuje intraluminální pH, což opět ovlivňuje funkci kolonocytů a hladinu kyslíku ve sliznici (Raskov, 2014). Přítomnost dusíku usnadňuje tvorbu N-nitrososloučenin, které vznikají v tlustém střevě. N-nitrososloučeniny tvoří DNA-adykty, které mohou způsobit mutace klíčových onkogenů a tumor supresorových genů (Raskov, 2014).

Studie poskytly důkazy, že příjem ovoce a zeleniny je spojen se sníženým rizikem Crohnovy choroby, příjem jídel typu fast food obsahujícího potraviny bohaté na tuky a cukry může naopak zhoršit rozvoj CD (Guan, 2019). Mastné kyseliny se středně

dlouhým řetězcem urychlují nástup střevního zánětu než mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (Guan, 2019). Ve většině západních rozvinutých zemí jsou potraviny bohaté na cukr považovány za jeden z rizikových faktorů CD a umělá potravinářská aditiva převládající v západní stravě mohou podporovat střevní zánět tím, že zasahují do bariérové funkce střeva (Guan, 2019). Strava bohatá na živočišné bílkoviny podporuje prozánětlivé reakce makrofágů a zhoršuje kolitidu u myši, zatímco strava bohatá na rostlinné bílkoviny nikoli (Kostovcikova, 2019). Vysoký příjem sacharózy, červeného masa nebo margarínu zvyšuje relativní riziko IBD, konzumace cereálií, ovoce a zeleniny nebo potravin s vysokým obsahem vlákniny je obecně snižuje (Kostovcikova, 2019).

Je prokázáno, že strava hraje důležitou roli ve vývoji kolorektálního karcinomu, a stejně tak se uznává, že maligní transformace kolonocytů je reakcí na konstantní nebo prodlouženou expozici karcinogenům v tlustém střevě (Raskov, 2014). Vysokokalorická strava bohatá na maso a tuky představuje pro kolonocyty velkou zátěž. Celkový energetický příjem a expozice karcinogenům prostřednictvím kouření a konzumace alkoholu představují hlavní rizikové faktory. Meta-analýza od Botteri udává, že kouření cigaret zdvojnásobuje riziko kolorektálních adenomů (Botteri, 2008). Epidemiologické studie zjistily, že alkohol zvyšuje riziko CRC, kde 10 g/den zvyšuje riziko o 10 % a 100 g/týden zvyšuje riziko o 18 % (Moskal, 2007). Kolonocyty se rychle adaptují na změny ve stravě a v tomto procesu akumulují epigenetické a genetické změny, často vedoucí k nestabilitě genomu, která je předpokladem pro vznik rakoviny (Raskov, 2014). Jak červené maso, tak zpracované maso zvyšují riziko CRC přibližně o 10 % s každými 30 g masa zkonsumovanými denně (Raskov, 2014). Četné kohortové studie a metaanalýzy poukazují zvýšené riziko CRC o 21 %–28 % při vysokém příjmu červeného a zpracovaného masa (Alexander, 2011). Nestrávené bílkoviny ze stravy podléhají bakteriální degradaci a fermentaci, které následně vedou k tvorbě N-nitrososloučenin (Fung, 2013). Také tepelná úprava masa má za následek tvorbu karcinogenů, jako jsou N-nitrososloučeniny, heterocyklické aminy a polycyklické aromatické uhlovodíky, a obsah těchto sloučenin ve stolici je spojen se zánětem a poškozením sliznic (Ben, 2014). Vysoký příjem vlákniny, zejména cereální vlákniny a celozrnných výrobků, je spojen se sníženým rizikem kolorektálního karcinomu (Aune, 2011). Dietní vláknina stimuluje růst normální střevní mikrobioty, a snižuje dobu a koncentraci karcinogenů v kontaktu se stěnou střeva (Eswaran, 2013). Když se vláknina dostane do tlustého střeva, výsledkem je částečná nebo úplná fermentace vedoucí k produkci SCFA a plynu, což ovlivňuje gastrointestinální funkci. SCFA snižují

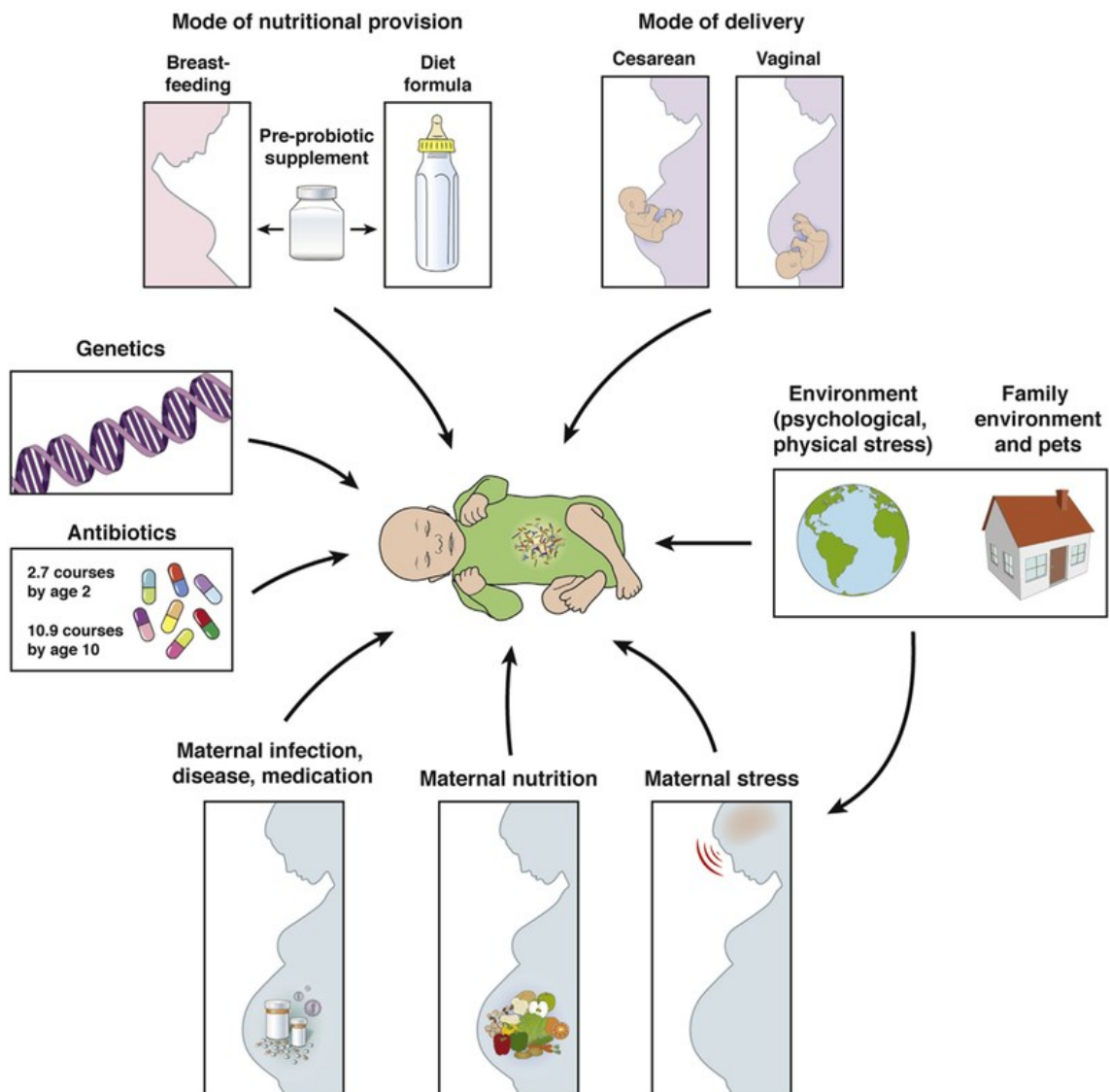
intraluminální pH, čímž zajišťují optimální podmínky pro kolonocyty a snižují konverzi žlučových kyselin na sekundární žlučové kyseliny (Raskov, 2014). Sekundární žlučové kyseliny bývají také spojovány se zvýšeným rizikem CRC. Jejich koncentrace se zdvojnásobuje v tlustém střevě u lidí v reakci na stravu s vysokým obsahem živočišných tuků. Sekundární žlučové kyseliny zvyšují buněčnou proliferační aktivitu ve sliznici tlustého střeva a tím mohou zvyšovat riziko mutace a maligní transformace (Raskov, 2014). Vystavení kolonocytů vysokým fyziologickým koncentracím sekundárních žlučových kyselin indukuje tvorbu reaktivních volných kyslíkových radikálů, což způsobuje oxidační poškození a mitotické aberace, které by mohly vést ke změnám DNA a nestabilitě genomu (Raskov, 2014).

64 až 89 % pacientů trpících syndromem dráždivého tračníku uvádí, že symptomy jsou vyvolány jídlem nebo specifickými potravinami, jako je pšenice, obiloviny, zelenina, mléčné výrobky, tučná jídla, kořeněná jídla, káva a alkohol, přičemž symptomy nejčastěji zahrnují bolesti břicha a problémy s plynatostí (Hayes, 2014). Špatně vstřebatelné a rychle fermentované sacharidy včetně fermentovatelných oligosacharidů, disacharidů a monosacharidů a polyolů (FODMAP) mohou představovat některé z dietních viníků symptomů IBS (Raskov, 2016). V posledních letech byly hlášeny příznivé výsledky diety s nízkým obsahem FODMAP u IBS. Metaanalýza stravy s nízkým obsahem FODMAP z roku 2016 zjistila významné snížení závažnosti symptomů IBS pro nadýmání břicha, bolest a průjem a významně zlepšila kvalitu života v 70 % pacientů (Marsh, 2016). Strava s vysokým obsahem FODMAP u pacientů trpících IBS výrazně zvyšuje objem plynů, břišní příznaky, zažívací potíže, a navíc způsobuje nestabilitu ve složení mikrobioty a snížení její diverzity (Raskov, 2016). Mikrobiota zdravých jedinců není ovlivněna FODMAP, což ukazuje na silnou korelaci mezi stravou, symptomy a dysbiózou u pacientů s IBS (Manichanh, 2014).

2.4.4 Tvorba mikrobiomu na začátku života

Je dobře známo, že dynamická symbióza střevní mikrobioty kojenců vzniká od narození a rychle se rozvíjí v prvních 3 letech života, zejména během kojeneckého věku. Střevní mikrobiota se ukázala jako kritický regulátor růstu a vývoje v časném postnatálním období života. Včasná mikrobiální expozice má zásadní roli ve vývoji imunitního, endokrinního, metabolického a nervového systému (Robertson, 2019). Poruchy ovlivněné jakýmkoli škodlivými faktory v raném věku mohou způsobit nepříznivé dlouhodobé následky pro zdraví hostitele. Dysbióza v kojeneckém věku je

spojena se zvýšeným rizikem imunologických onemocnění, jako je astma, alergická rýma, diabetes 1. typu a celiakie, a také zvýšeným rizikem metabolických onemocnění jako je obezita a diabetes 2. typu (Mohajeri, 2018). Dozrávání střevní mikroflóry je silně ovlivněno jak vnitřními vlastnostmi hostitele, tak vnějšími faktory, jako je gestační věk, způsob porodu, způsob krmení a expozice antibiotikům (Obr. 10). Také gestační užívání antibiotik ovlivňuje kolonizaci mikroflóry u kojenců.



Obrázek 10: Faktory ovlivňující vývoj střevního mikrobiomu na začátku života (Osadchiy, 2019)

2.4.4.1 Vliv císařského řezu na tvorbu mikrobiomu

Uvádí se, že porod císařským řezem je jeden z nejsilnějších narušujících faktorů normálního bakteriálního kolonizačního procesu (Milani, 2017). Mikrobiální populace novorozenců narozených vaginálně připomíná mikrobiotu mateřské vagíny a perianálu. Novorozenci porození císařským řezem získávají převážně bakterie pocházející z kůže

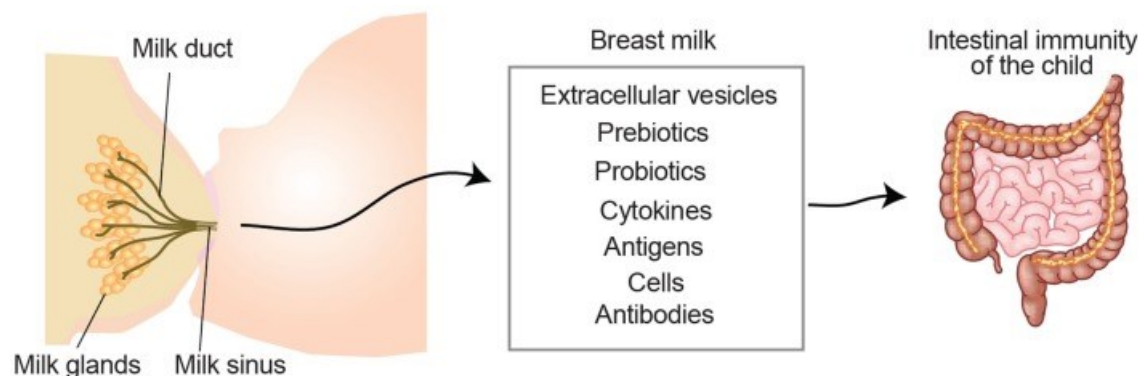
matky, nemocničního personálu a nemocničního prostředí. Mateřská mikrobiota má významný vliv na novorozenecký mikrobiom a přispívá k regulaci vývoje imunity, metabolismu, mozkových funkcí a chování. Tyto příznivé účinky mateřské mikroflóry mohou být vertikálně přenášeny na potomky prostřednictvím vaginálního porodu. Navzdory tomu, že císařský řez může být život zachraňující intervencí, je-li lékařsky indikován, může tento zákrok vést ke krátkodobým i dlouhodobým zdravotním účinkům u dětí, na které nebyla přenesena mateřská mikroflóra porodem (Long, 2012).

Vaginálně porozené děti přicházejí do kontaktu s vaginální a fekální mikrobiotou matky, což má za následek neonatální kolonizaci střeva vaginálními mikroby rodů *Lactobacillus* a *Prevotella* (Milani, 2017). Naproti tomu novorozenci narození císařským řezem nejsou přímo vystaveni mateřským mikrobům a jsou osídleni bakteriemi kmenů *Proteobacteria*, *Firmicutes* a *Actinobacteria* (Milani, 2017). Také vykazují sníženou rozmanitost střevní mikrobioty a jsou méně často kolonizováni mikroorganismy, jako jsou rody *Bifidobacterium* a *Bacteroides*, přičemž jsou častěji kolonizováni *Clostridium sensu stricto* (cluster I) a *Clostridium difficile* (Milani, 2017).

2.4.4.2 Vliv kojení na tvorbu mikrobiomu

Kojené děti mají nižší výskyt infekcí gastrointestinálního traktu, kojení chrání před rozvojem IBD, přičemž déle trvající kojení přináší větší výhody (Glassner, 2020). Mateřské mléko je mikrobiálně rozmanité a má probiotické i prebiotické účinky (Moossavi, 2018). Mateřské mléko obsahuje druhy *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* a rod *Bifidobacterium* (Parigi, 2015). Mikrobiota v mateřském mléce podporuje imunitní toleranci, zabraňuje infekci a hraje roli při udržování epiteliální bariéry prostřednictvím imunitně zprostředkovaného vlivu na složení střevní mikrobioty (Parigi, 2015). Oligosacharidy v mateřském mléce mají prebiotické účinky, které přispívají k vytvoření střevní mikroflóry kojenců (Moossavi, 2018). Kojení poskytuje směs živin a promikrobiálních a antimikrobiálních látek. IgA získané z mateřského mléka podporují regulační a „tolerogenní“ imunitní systém. Kojenecké mléko také obsahuje oligosacharidy lidského mléka, které mohou selektivně ovlivňovat růst a funkce prospěšných mikrobů (Milani, 2017). Oligosacharidy lidského mléka inhibují adhezi enteropatogenních druhů *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* a *Salmonella fyris* na epiteliální buňky (Glassner, 2020). Sloučeniny získané z mateřského mléka přispívají k rozvoji dětského střevního imunitního systému (Obr. 11). Cytokiny, které se mohou

lišit v závislosti na zdravotním stavu matky, mají potenciál přímo podporovat vývoj imunitního systému dítěte (Pairigi, 2015). Antigeny vyvolávají u kojeného dítěte toleranci i alergie. Bílé krvinky od matky se také mohou přenášet mlékem a vykonávat různé funkce u dítěte (např. tvorba cytokinů nebo protilátek). Protilátky přenášené mateřským mlékem podporují pasivní imunizaci dítěte v prvních měsících života.



Obrázek 11: Sloučeniny získané z mateřského mléka (Pairigi, 2015)

Mezi kojenými a uměle krmenými dětmi existují rozdíly ve střevním mikrobiálním složení. Střevní mikrobiom kojených dětí vykazuje nižší diverzitu než mikroflóra kojenců krmených umělou kojeneckou výživou. Transkriptomické analýzy střevních epitelálních buněk ukázaly, že typ kojenecké výživy také ovlivňuje expresi genů hostitele (Milani, 2017). S kojením se posilují transkripce genů, které jsou spojeny s imunologickou a metabolickou aktivitou. Děti krmené umělou výživou jsou vystaveny jiným sacharidům, bakteriím a mikroživinám, což způsobuje odlišnou mikrobiální kolonizaci střeva. Stolice kojených dětí obsahují vyšší hladiny bakterií rodu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* a nižší hladiny potenciálně patogenních bakterií než děti krmené umělou výživou, v jejichž stolici dominují rody *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Atopobium* a bakterie z kmene *Bacteroidetes* (Pairigi, 2015). V důsledku těchto rozdílů v mikrobiotě se také liší hladiny SCFA ve stolici jedinců kojených mateřským mlékem oproti kojencům krmených umělou výživou. Propionát a butyrát je přítomen u druhé jmenované skupiny ve vyšších hladinách. Během období krmení výlučně mateřským mlékem se zdá, že dětská mikrobiota kolísá, postupně se diverzifikuje až do odstavení od mateřského mléka, kdy se mění směrem k mikrobiotě dospělého jedince a stává se stabilnější a komplexní. Ukončení kojení a přechod na pestřejší, tuhou stravu je považováno za způsobení zvýšení alfa diverzity střevní mikroflóry kojenců (Socała, 2021). Zaváděním nové potravy a živin po odstavení se zvyšuje alfa diverzita, což má za následek výměnu bakterií kmenů *Proteobacteria*

a *Actinobacterium* za bakterie z kmenů *Firmicutes* a *Bacteroidetes* (Glassner, 2020). Zvýšený příjem bílkovin je v korelaci se zvýšením počtu bakterií z čeledi *Lachnospiraceae* a snížením sacharolytických bakterií, jako je čeleď *Bifidobacteriaceae*, které jsou spojovány s mateřským mlékem a ranou výživou kojenců (Glassner, 2020). Požívání vlákniny souvisí s vyššími hladinami čeledi *Prevotellaceae*. Přejít z výhradně mateřského mléka na pevnou stravu indikuje vývoj mikroflóry dospělého člověka s geny odpovědnými za komplexní rozklad sacharidů, škrobu a xenobiotik a také tvorbu vitaminů. Mikrobiota dospělého jedince je funkčně složitější a je strukturovaná tak, aby byla schopná rozložit polysacharidy rostlinného původu, které poskytují vzájemné výhody pro hostitele i mikroby (Milani, 2017).

2.4.5 Změna mikrobiomu s rostoucím věkem

Střevní mikrobiom není statický, získává a ztrácí druhy v průběhu času, přičemž různé taxony mají různou stabilitu a některé trvale zůstávají ve střevě po mnoho let. S rostoucím věkem se mikrobiota posouvá směrem k více prozánětlivému profilu, který může být spojen s nepříznivými zdravotními problémy, a dokonce s tumorigenezí u starších hostitelů. V tumorigenezi tlustého střeva hraje důležitou roli rovnováha mezi ochrannými populacemi bakterií produkujícími butyrát a prozánětlivými populacemi degradujícími mucin (Raskov, 2016). Střevní mikrobiom starého typu je charakterizován sníženou biologickou rozmanitostí, zvýšeným množstvím oportunních fakultativních anaerobů a sníženým množstvím druhů s protizánětlivými vlastnostmi (Candela, 2014). S pokročilým věkem se profil mikrobiomu vyznačuje sníženou produkcí butyrátu a zvýšenou hodnotou pH uvnitř tlustého střeva, což vytváří nepřátelské prostředí pro kolonocyty. Butyrát má navíc antiproliferativní aktivitu a indukuje apoptózu buněk CRC *in vitro* (Fung, 2013). Od slepého střeva po konečník se pH zvyšuje, což je možným vysvětlením zvyšující se náchylnosti k tumorigenezi v distálním tlustém střevě a konečníku (Raskov, 2014).

2.5 Modulace složení mikrobiomu

Střevní mikroflóru lze ovlivnit stravou, probiotiky, prebiotiky, antibiotiky a transplantací fekální mikrobioty. Probiotika jsou kultury živých mikroorganismů, které po podání prospěšně ovlivňují hostitele zlepšením vlastností a složení jeho střevního mikrobiomu. Tradičně bývají probiotika zastoupena skupinami bakterií mléčného kvašení, tj. rody *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*, běžně se však používají i jiné

bakteriální a kvasinkové kmeny, jako je druh *Escherichia coli* a rody *Streptococcus* a *Saccharomyces* (Wosinka, 2019). Probiotika jsou přítomna v různých složkách stravy a mnoho z nich kolonizuje lidské střevo již v raném věku (Raskov, 2016). Pomáhají při udržování integrity sliznice včetně funkce, ale také chrání sliznici před toxiny, alergeny a patogeny. Jejich účinek je výsledkem několika mechanismů, jako je proliferace, cytoprotekce, migrace buněk, produkce proteinů a genová exprese (Raskov, 2016). Kromě toho mohou probiotika přímo antagonizovat patogeny tím, že s nimi soutěží o živiny a fyzický prostor (Jain, 2015). Jedním z důležitých cytoprotektivních účinků je zajistit integritu těsného spojení epitelu a tím zachovat funkci slizniční bariéry. Ukázalo se, že zejména kombinace rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* obnovuje integritu bariéry těsného spojení (Nébot-Vivinus, 2014). Probiotika zvyšují produkci protizánětlivých cytokinů, snižují prozánětlivé dráhy a zabraňují apoptóze.

Probiotika se mohou skládat z jednoho nebo z kombinace několika kmenů, buď jako kapsle, prášky nebo jako složka potravin, např. jogurtu. V posledních letech došlo k výraznému nárůstu začlenění probiotických bakterií do různých typů potravinářských výrobků, zejména do fermentovaných mlék ale také do nemléčných potravin, jako jsou ovocné a bobulovité šťávy a cereálie (Champagne, 2011). V kvalitních produktech by denní dávka měla být přibližně 10^9 CFU/den (Maukonen, 2015). Probiotika obvykle nekolonizují gastrointestinální trakt, a proto by měly být produkty konzumovány denně pro zdravotní přínosy. Jednou z hlavních obav souvisejících s trhem s probiotiky je, že některé kmeny nemají prokazatelný důkaz o účinnosti.

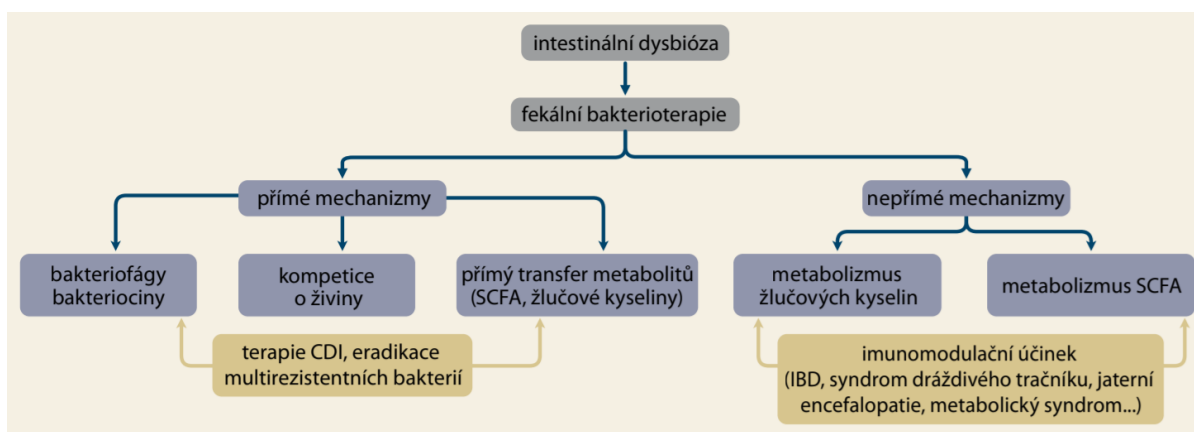
Prebiotika jsou nestravitelné složky potravin, které podporují růst nebo aktivitu vybraných střevních bakterií a tím pozitivně ovlivňují složení střevního mikrobiomu. Prebiotika představují specifický typ vlákniny, která po fermentaci zprostředkovává měřitelné změny ve složení střevní mikroflóry, obvykle zvýšení relativního množství bakterií považovaných za prospěšné. Aby zdroj vlákniny mohl být považován za prebiotikum, musí splňovat určitá kritéria. Musí mít schopnost být fermentován střevní mikrobiotou, být rezistentní vůči žaludečním kyselinám a musí selektivně stimulovat růst nebo aktivitu střevních bakterií, které mají pozitivní účinek na prospívání hostitele. Kombinace probiotik a prebiotik, které mají synergický účinek, se nazývá synbiotika. Tato kombinace u synbiotik přispívá k prodloužení přežití probiotika, kdy prebiotikum pro ně tvoří specifický substrát. I přes přesvědčivé a reprodukovatelné výsledky ze studií na zvířatech, které prokazují účinnost v prevenci nebo léčbě mnoha

onemocnění, např. IBD, IBS, CRC, obezita, diabetes 2. typu a kardiovaskulární onemocnění, údaje u lidí zůstávají nejednoznačné (Marchesi, 2016).

Prebiotika, která v současnosti splňují prebiotická kritéria, jsou inulin, frukto-oligosacharidy, galakto-oligosacharidy a laktulóza (Maukonen, 2015). Nejlepší zdroje přirozeně se vyskytujících prebiotik lze nalézt v zelenině, jako jsou artyčoky, cibule, čekanka, česnek a pórek (Walton, 2012). Existuje mnoho studií, které ukazují bifidogenní vlastnosti probiotik a zvýšení množství rodu *Lactobacillus* a druhu *F. prausnitzii* (Walton, 2012). Přidání galakto-oligosacharidů a frukto-oligosacharidů do kojenecké výživy vedlo k tvorbě bakteriální populace, která se podobala mikrobiotě kojenců kojených mateřským mlékem než kojenců čistě krmených umělou výživou (Rinne, 2005). Frukto-oligosacharidy mají také pozitivní účinky na funkci střevní bariéry (Maukonen, 2015).

Polyfenoly jsou různorodou třídou rostlinných sekundárních metabolitů, které jsou často spojovány s barvou, chutí a obrannými mechanismy ovoce a zeleniny (Maukonen, 2015). Dlouho byly studovány jako nejpravděpodobnější třída sloučenin přítomných v rostlinných potravinách schopných ovlivňovat fyziologické procesy, které chrání před chronickými nemocemi spojenými se stravou. Rostlinné polyfenoly mají potenciál ovlivňovat určité rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění, jsou také antioxidanty, mají antimikrobiální vlastnosti a mají vlastní schopnost pohlcovat volné radikály (Tuohy, 2012). Střevní mikrobiota hraje zásadní roli při přeměně polyfenolů v potravě na vstřebatelné biologicky aktivní látky, přičemž působí na odhadovaných 95 % polyfenolů v potravě, které se dostanou do tlustého střeva. Lidská střevní mikroflóra má rozsáhlé hydrolytické aktivity a štěpí mnoho komplexních polyfenolů na menší fenolové kyseliny, které mohou být absorbovány střevní sliznicí (Maukonen, 2015). Dietní intervence s polyfenolovými extrakty, zejména dealkoholizovaným polyfenolovým extraktem z červeného vína a flavanoly odvozenými z kaka, moduluje lidskou střevní mikrobiotu směrem ke „zdravějšímu profilu“ zvýšením relativního množství rodů *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* (Maukonen, 2015). Naopak také mnoho fenolických sloučenin má *in vitro* antimikrobiální aktivitu vůči patogenním bakteriím, jako jsou *Salmonella spp.*, druhy *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* (Requena, 2010). Určité funkční potraviny se tak zapojují do základních ekologických procesů regulujících strukturu a funkci komunity střevní mikrobioty, což přispívá ke zdraví střevního mikrobiomu a jeho hostitele. (Marchesi, 2016)

Fekální transplantace mikrobioty je metoda, jejíž cílem je navrácení přirozené homeostázy střevní mikrobioty pacienta, a to přenosem stolice zdravého dárce do zažívacího traktu nemocného. Fekální bakterioterapii lze využít i pro eradikaci multirezistentních bakteriálních kmenů, které kolonizují střevo pacientů. Mechanismy léčby pomocí transplantace fekální mikrobioty jsou intenzivně zkoumány (Obr. 12) (Stebel, 2020).



Obrázek 12: Mechanismy působení léčby fekální transplantací stolice (Stebel, 2020)

Přímé mechanismy jsou nezávislé na hostiteli a řadí se mezi ně působení bakteriofágů, kompetice o živiny s patogeny a blokace přilnutí patogenních bakterií. Dalším mechanismem je působení bakteriocinů neboli látek produkovaných bakteriemi (např. enzymy, peptidy) se selektivním antimikrobiálním účinkem. Nepřímými mechanismy jsou ovlivňování metabolismu žlučových kyselin a SCFA ve střevě (Wilson, 2019). V klinických studiích se často využívají fekální deriváty, což jsou pečlivě kontrolované, o složení přesně nedefinované přípravky vyrobené ze stolice více dárců. Jsou upravovány pro možnost jednoduššího podání pacientovi a delšího skladování, určitým způsobem leží na hranici mezi probiotiky a fekální bakterioterapií (Stebel, 2020).

3. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo popsat důležitost lidského mikrobiomu, který je pro zdravého jedince nepostradatelný. Mikrobiom každého člověka je unikátní a je formován už od narození. Složení mikrobiomu je významným regulátorem zdraví jedince, jelikož u mnoha pacientů trpících civilizačními nebo neurodegenerativními poruchami je pozměněn oproti zdravým subjektům a v budoucnosti by mohl sloužit jako prediktivní ukazatel před vypuknutím nemoci nebo ke zmírnění symptomů daných chorob. Výzkum mikrobiomu je v současné době velmi populární a stále více vědců se tímto tématem zabývá v mnoha různých oblastech. V poznávání mikrobiomu jsme stále na začátku, většina závěrů týkajících se nemocí spojených s mikrobiomem se dá vyvozovat pouze z modelů na zvířatech. Nejvíce prozkoumaný je střevní mikrobiom, který se svým působením nelimituje pouze na střevo, ale má vliv na celý lidský organismus. Mezi významné způsoby, kterými ovlivňuje člověka patří tvorba metabolitů, jako jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem, serotonin, kyselina gama-aminomáselná a mnoho dalších. Střevní dysbióza je pozorována u zánětlivých střevních onemocnění jako jsou Crohnova choroba a ulcerózní kolitida. U pacientů s těmito onemocněními ale stále není jasné, zda je dysbióza příčinou nebo důsledkem jejich nemoci. Mikrobiota má také pravděpodobně vliv na vznik kolorektálního karcinomu, jelikož mikrobiom svým metabolismem produkuje látky, které mohou negativně ovlivňovat střevní sliznici a tvořit DNA-adeny. Navíc dlouhodobý zánět u pacientů trpících zánětlivými onemocněními střev je rizikovým faktorem pro rozvoj kolorektálního karcinomu. Dysbióza a následná dysfunkce osy mozek-střevo přispívá k projevům syndromu dráždivého tračníku. Mezi hlavní faktory ovlivňující mikrobiom patří užívání antibiotik, stravovací návyky, způsob porodu a kojení mateřským mlékem. Mikrobiom se výrazně mění s rostoucím věkem směrem k prozánětlivé mikroflóře. K podpoře zdravého mikrobiomu lze užívat probiotika, prebiotika a potraviny obsahujících polyfenoly, naopak by se mělo omezit časté užívání antibiotik.

4. LITERÁRNÍ ZDROJE

1. Alexander, D.D., Weed D.L., Cushing C.A., et al. Meta-analysis of prospective studies of red meat consumption and colorectal cancer. *European Journal of Cancer Prevention*. 2011, 20(4), 293-307.
2. Aune, D., Chan D.S.M., Lau R., et al. Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ*. 2011, 343.
3. Badawy, A.A. Tryptophan availability for kynurenine pathway metabolism across the life span: Control mechanisms and focus on aging, exercise, diet and nutritional supplements. *Neuropharmacology*. 2017, 112, 248-263.
4. Bach, J.-F. Revisiting the Hygiene Hypothesis in the Context of Autoimmunity. *Frontiers in Immunology*. 2021, 11.
5. Baud, D., Pattaroni C., Vulliamoz N., et al. Sperm Microbiota and Its Impact on Semen Parameters. *Frontiers in Microbiology*. 2019, 10.
6. Becattinni, S., Taur Y., Pamer E.G. Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease. *Trends in Molecular Medicine*. 2016, 22(6), 458-478.
7. Ben, Q., Sun Y., Chai R., et al. Dietary Fiber Intake Reduces Risk for Colorectal Adenoma: A Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2014, 146(3), 689-699.
8. Benítez-Páez, A., Gómez del Pulgar E.M., Kjølbaek L., et al. Impact of dietary fiber and fat on gut microbiota re-modeling and metabolic health. *Trends in Food Science & Technology*. 2016, 57, 201-212.
9. Botteri, E., Iodice S., Bagnardi V., et al Smoking and Colorectal Cancer. *JAMA*. 2008, 300(23).
10. Bravo, D., Hoare A., Soto C., et al. Helicobacter pylori in human health and disease: Mechanisms for local gastric and systemic effects. *World Journal of Gastroenterology*. 2018, 24(28), 3071-3089.
11. Byrd, A.L., Belkaid Y., Segre J.A. The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*. 2018, 16(3), 143-155.
12. Candela, M. Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. *World Journal of Gastroenterology*. 2014, 20(4).
13. Carabotti, M., Scirocco A., Maselli M.-A., et al. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology*. 2015, 28, 203-209.

14. Carding, S., Verbeke K., Vipond D.T., et al. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microbial Ecology in Health & Disease*. 2015, 26.
15. Cohen, L.J., Cho J.H., Gevers D., et al. Genetic Factors and the Intestinal Microbiome Guide Development of Microbe-Based Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2019, 156(8), 2174-2189.
16. Cryan, J.F., O'Riordan K.J., Cowan C.S.M., et al. The Microbiota-Gut-Brain Axis. *Physiological Reviews*. 2019, 99(4), 1877-2013.
17. D'Amelio, P., Sassi F. Gut Microbiota, Immune System, and Bone. *Calcified Tissue International*. 2018, 102(4), 415-425.
18. De Palma, G., Lynch M.D., Lu J., et al. The Adoptive Transfer of Anxiety and Gut Dysfunction From IBS Patients to Axenic Mice Through Microbiota Transplantation. *Gastroenterology*. 2014, 146(5).
19. De Vos, W.M., De Vos E.A.J. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation. *Nutrition Reviews*. 2012, 70(suppl_1), 45-56.
20. De Vos, W.M., Tilg H., Van Hul M., et al. Gut microbiome and health: mechanistic insights. *Gut*. 2022, 71(5), 1020-1032.
21. Eckburg, P.B., Bik E.M., Bernstein C.N., et al. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*. 2005, 308(5728), 1635-1638.
22. Egert, M., Simmering R., Riedel C.U. The Association of the Skin Microbiota With Health, Immunity, and Disease. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2017, 102(1), 62-69.
23. El Aidy, S., Stilling R., Dinan T.G., et al. Microbiome to Brain: Unravelling the Multidirectional Axes of Communication. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2016, 874 301-336.
24. Enck, P., Aziz Q., Barbara G., et al. Irritable bowel syndrome. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016, 2(1).
25. Eswaran, S., Muir J., Chey W.D. Fiber and Functional Gastrointestinal Disorders. *American Journal of Gastroenterology*. 2013, 108(5), 718-727.
26. Fettweis, J.M., Brooks P.J., Serrano M.G., et al. Differences in vaginal microbiome in African American women versus women of European ancestry. *Microbiology*. 2014, 160(10), 2272-2282.
27. Fung, K., Ooi C., Zucker M., et al. Colorectal Carcinogenesis: A Cellular Response to Sustained Risk Environment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013, 14(7), 13525-13541.

28. Glassner, K.L., Abraham B.P., Quigley E.M.M. The microbiome and inflammatory bowel disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020, 145(1), 16-27.
29. Goethel, A., Turpin W., Rouquier S., et al. Nod2 influences microbial resilience and susceptibility to colitis following antibiotic exposure. *Mucosal Immunology*. 2019, 12(3), 720-732.
30. Guan, Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Immunology Research*. 2019, 1-16.
31. Hayes, P.A., Fraher M.H., Quigley E.M.M. Irritable Bowel Syndrome: The Role of Food in Pathogenesis and Management. *Gastroenterology & Hepatology*. 2014, 10(3), 164–174.
32. Holzer, P., Farzi A. Neuropeptides and the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2014, 817, 195-219.
33. Huang, J., Wang L., Dahiya S. Histone/protein deacetylase 11 targeting promotes Foxp3+ Treg function. *Scientific Reports*. 2017, 7(1).
34. Champagne, C.P., Ross R.P, Saarela M., et al. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *International Journal of Food Microbiology*. 2011, 149(3), 185-193.
35. Chen, Y.E., Fischbach M.A., Belkaid Y. Skin microbiota–host interactions. *Nature*. 2018, 553(7689), 427-436.
36. Cho, I., Blaser M.J. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Genetics*. 2012, 13(4), 260-270.
37. Isolauri, E., Salminen S., Ouwehand A.C. Probiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2004, 18(2), 299-313.
38. Jain, N., Walker W.A. Diet and host–microbial crosstalk in postnatal intestinal immune homeostasis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2015, 12(1), 14-25.
39. Janeckova, L., Kostovcikova K., Svec J., et al. Unique Gene Expression Signatures in the Intestinal Mucosa and Organoids Derived from Germ-Free and Monoassociated Mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20(7).
40. Jones, M.L., Ganopoulosky J.G., Martoni C.J., et al. Emerging science of the human microbiome. *Gut Microbes*. 2014, 5(4).
41. Kennedy, P.J., Cryan J.F., Dinan T.G., et al. Kynurenine pathway metabolism and the microbiota-gut-brain axis. *Neuropharmacology*. 2017, 112, 399-412.

42. Korpela, K., Salonen A., Virta L.R., et al. Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in Finnish pre-school children. *Nature Communications*. 2016, 7(1).
43. Kostic, A.D., Chun E., Robertson L., et al. *Fusobacterium nucleatum* Potentiates Intestinal Tumorigenesis and Modulates the Tumor-Immune Microenvironment. *Cell Host & Microbe*. 2013, 14(2), 207-215.
44. Kostovcikova, K., Coufal S., Galanova N., et al. Diet Rich in Animal Protein Promotes Pro-inflammatory Macrophage Response and Exacerbates Colitis in Mice. *Frontiers in Immunology*. 2019, 10.
45. LeBlanc, J.G., Milani C., de Giori G.S., et al. Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current Opinion in Biotechnology*. 2013, 24(2), 160-168.
46. Lee, N., Kim W.-U. Microbiota in T-cell homeostasis and inflammatory diseases. *Experimental & Molecular Medicine*. 2017, 49(5).
47. Lloyd-Price, J., Abu-Ali G., Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Medicine*. 2016, 8(1).
48. Long, G., Hu Y., Tao E., et al. The Influence of Cesarean Section on the Composition and Development of Gut Microbiota During the First 3 Months of Life. *Frontiers in Microbiology*. 2021, 12.
49. Lukeš, J., Stensvold C.R., Jirků-Pomajbíková K., et al. Are human intestinal eukaryotes beneficial or commensals?. *PLOS Pathogens*. 2015, 11(8).
50. Man, W.H., de Steenhuijsen P., Wouter A.A., et al. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nature Reviews Microbiology*. 2017, 15(5), 259-270.
51. Manichanh, C., Eck A., Varela E. Anal gas evacuation and colonic microbiota in patients with flatulence: effect of diet. *Gut*. 2014, 63(3), 401-408.
52. Marchesi, J.R., Adams D.H., Fava F., et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. 2016, 65(2), 330-339.
53. Marsh, A., Eslick E.M., Eslick G.D. Does a diet low in FODMAPs reduce symptoms associated with functional gastrointestinal disorders? A comprehensive systematic review and meta-analysis. *European Journal of Nutrition*. 2016, 55(3), 897-906.

54. Martin-Gallausiaux, C., Marinelli L., Blottière H.M., et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2021, 80(1), 37-49.
55. Maukonen, J., Saarela M. Human gut microbiota: does diet matter?. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2015, 74(1), 23-36.
56. Mayer, E.A., Tillisch K., Gupta A. Gut/brain axis and the microbiota. *Journal of Clinical Investigation*. 2015, 125(3), 926-938.
57. Milani, C., Duranti S., Bottacini F., et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2017, 81(4).
58. Mills, J.P., Rao K., Young V.B. Probiotics for prevention of *Clostridium difficile* infection. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2018, 34(1), 3-10.
59. Mohajeri, M.H., Brummer R.J.M., Rastall R.A., et al. The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *European Journal of Nutrition*. 2018, 57(1), 1-14.
60. Mohajeri, M.H., La Fata G., Steinert R.E., et al. Relationship between the gut microbiome and brain function. *Nutrition Reviews*. 2018, 76(7), 481-496.
61. Moosavi, S., Miliku K., Sepehri S., et al. The Prebiotic and Probiotic Properties of Human Milk: Implications for Infant Immune Development and Pediatric Asthma. *Frontiers in Pediatrics*. 2018, 6.
62. Moraes, F.A.C., de Almeida-Pittito B., Ferreira S.R.G. The Gut Microbiome in Vegetarians. *Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and other Strategic Applications*. 2019, 393-400.
63. Moreno, I., Simon C. Deciphering the effect of reproductive tract microbiota on human reproduction. *Reproductive Medicine and Biology*. 2019, 18(1), 40-50.
64. Morrison, D.J., 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.
65. Moskal, A., Norat T., Ferrari P., et al. Alcohol intake and colorectal cancer risk: A dose–response meta-analysis of published cohort studies. *International Journal of Cancer*. 2007, 120(3), 664-671.
66. Mueller, S., Saunier K., Hanisch C., et al. Differences in Fecal Microbiota in Different European Study Populations in Relation to Age, Gender, and Country: a Cross-Sectional Study. *Applied and Environmental Microbiology*. 2006, 72(2), 1027-1033.

67. Murphy, E.A., Velazquez K.T., Herbert K.M. Influence of high-fat diet on gut microbiota. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2015, 18(5), 515-520.
68. Nébot-Vivinus, M. Multispecies probiotic protects gut barrier function in experimental models. *World Journal of Gastroenterology*. 2014, 20(22).
69. Ni, J., Wu G.D., Albenberg L., et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation?. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2017, 14(10), 573-584.
70. Osadchiy, V., Martin C.R., Mayer E.A. The Gut–Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2019, 17(2), 322-332.
71. Parigi, S.M., Eldh M., Larssen P., et al. Breast Milk and Solid Food Shaping Intestinal Immunity. *Frontiers in Immunology*. 2015, 6.
72. Park, J., Kim M., Kang S.G., et al. Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR–S6K pathway. *Mucosal Immunology*. 2015, 8(1), 80-93.
73. Pnawar, R.B., Sequeira R.P., Clarke T.B. Microbiota-mediated protection against antibiotic-resistant pathogens. *Genes & Immunity*. 2021, 22(5-6), 255-267.
74. Portune, K.J., Beaumont M., Davila A.-M., et al. Gut microbiota role in dietary protein metabolism and health-related outcomes: The two sides of the coin. *Trends in Food Science & Technology*. 2016, 57, 213-232.
75. Qin, J., Li R., Raes J., et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010, 464(7285), 59-65.
76. Rajilić-Stojanović, M., Biagi E., Heilig H.G.H.J., et al. Global and Deep Molecular Analysis of Microbiota Signatures in Fecal Samples From Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology*. 2011, 141(5), 1792-1801.
77. Rajilić-Stojanović, M., Smidt H., De Vos W.M. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environmental Microbiology*. 2007, 9(9), 2125-2136.
78. Ramirez, J., Guarner F., Bustos Fernandez L., et al. Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020, 10.
79. Raskov, H. Colorectal carcinogenesis-update and perspectives. *World Journal of Gastroenterology*. 2014, 20(48).

80. Raskov, H., Burcharth J., Pommergaard H.-C., et al. Irritable bowel syndrome, the microbiota and the gut-brain axis. *Gut Microbes*. 2016, 7(5), 365-383.
81. Ravel, J., Gajer P., Abdo Z., et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011, 108, 4680-4687.
82. Requena, T., Monagas M., Pozo-Bayón M.A., et al. Perspectives of the potential implications of wine polyphenols on human oral and gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*. 2010, 21(7), 332-344.
83. Requena, T., Velasco M. The human microbiome in sickness and in health. *Revista Clínica Española*. 2021, 221(4), 233-240.
84. Reyes, A., Haynes M., Hanson N., et al. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature*. 2010, 466(7304), 334-338.
85. Rhee, S.H., Pothoulakis C., Mayer E.A. Principles and clinical implications of the brain–gut–enteric microbiota axis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2009, 6(5), 306-314.
86. Rigottier-Gois, L. Dysbiosis in inflammatory bowel diseases: the oxygen hypothesis. *The ISME Journal*. 2013, 7(7), 1256-1261.
87. Rigottier-Gois, L., Bourhis A.-G., Gramet G., et al. Fluorescent hybridisation combined with flow cytometry and hybridisation of total RNA to analyse the composition of microbial communities in human faeces using 16S rRNA probes. *FEMS Microbiology Ecology*. 2003, 43(2), 237-245.
88. Rinne, M.M., Gueimonde M., Kalliomäki M., et al. Similar bifidogenic effects of prebiotic-supplemented partially hydrolyzed infant formula and breastfeeding on infant gut microbiota. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2005, 43(1), 59-65.
89. Robertson, R.C., Manges A.R., Finlay B.B., et al. The Human Microbiome and Child Growth – First 1000 Days and Beyond. *Trends in Microbiology*. 2019, 27(2), 131-147.
90. Rossen, N.G., Bart A., Verhaar N., et al. Low prevalence of *Blastocystis* sp. in active ulcerative colitis patients. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2015, 34(5), 1039-1044.
91. Rowland, I., Gibson G., Heinken A., et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*. 2018, 57(1), 1-24.

92. Seyedian, S.S., Nokhostin F., Malamir M.D. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *Journal of Medicine and Life*. 2019, 12(2), 113-122.
93. Shaw, S.Y., Blanchard J.F., Bernstein C.N. Association Between the Use of Antibiotics in the First Year of Life and Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *American Journal of Gastroenterology*. 2010, 105(12), 2687-2692.
94. Shi, N., Li N., Duan X., et al. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Military Medical Research*. 2017, 4(1).
95. Shin, A., Preidis G.A., Shulman R., et al. The Gut Microbiome in Adult and Pediatric Functional Gastrointestinal Disorders. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2019, 17(2), 256-274.
96. Simões, C.D., Maukonen J., Kaprio J., et al. Habitual Dietary Intake Is Associated with Stool Microbiota Composition in Monozygotic Twins. *The Journal of Nutrition*. 2013, 143(4), 417-423.
97. Small, C.L., Xing L., McPhee J.B., et al. Acute Infectious Gastroenteritis Potentiates a Crohn's Disease Pathobiont to Fuel Ongoing Inflammation in the Post-Infectious Period. *PLOS Pathogens*. 2016, 12(10).
98. Socała, K., Doboszewska U., Szopa A., et al. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacological Research*. 2021, 172.
99. Sonnenburg, E.D., Smits S.A., Tikhonov M., et al. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature*. 2016, 529(7585), 212-215.
100. Stebel, R., Vojtilová L., Husa P. Fecal microbiota transplantation – past, present, and future. *Gastroenterologie a hepatologie*. 2020, 74(1), 541-61.
101. Strandwitz, P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Research*. 2018, 1693, 128-133.
102. Tap, J., Mondot S., Levenez F., et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environmental Microbiology*. 2009, 11(10), 2574-2584.
103. Tuohy, K.M., Conterno L., Gasperotti M., et al. Up-regulating the Human Intestinal Microbiome Using Whole Plant Foods, Polyphenols, and/or Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, 60(36), 8776-8782.
104. Ubags, N.D.J., Marsland B.J. Obesity and the microbiome: Big changes on a small scale?. *Mechanisms and Manifestations of Obesity in Lung Disease*. 2019, 281-300.

105. Ungaro, R., Bernstein C.N., Geary R., et al. Antibiotics Associated With Increased Risk of New-Onset Crohn's Disease But Not Ulcerative Colitis: A Meta-Analysis. *American Journal of Gastroenterology*. 2014, 109(11), 1728-1738.
106. van der Beek, C.M., Bloemen J.G., van der Broek M.A., et al. Hepatic Uptake of Rectally Administered Butyrate Prevents an Increase in Systemic Butyrate Concentrations in Humans. *The Journal of Nutrition*. 2015, 145(9), 2019-2024.
107. Walton, G.E., van den Heuvel E.G.H.M., Kosters M.H.W., et al. A randomised crossover study investigating the effects of galacto-oligosaccharides on the faecal microbiota in men and women over 50 years of age. *British Journal of Nutrition*. 2012, 107(10), 1466-1475.
108. Wang, H.-X., Wang Y.-P. Gut Microbiota-brain Axis. *Chinese Medical Journal*. 2016, 129(19), 2373-2380.
109. Wilson, B.C., Vatanen T., Cutfield W.S., et al. The Super-Donor Phenomenon in Fecal Microbiota Transplantation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019, 9.
110. Wlodarska, M., Kostic A.D., Xavier R.J. An Integrative View of Microbiome-Host Interactions in Inflammatory Bowel Diseases. *Cell Host & Microbe*. 2015, 17(5), 577-591.
111. Wong, J.M.W., Comelli E.M., Kendall C.W.C., et al. Dietary Fiber, Soluble and Insoluble, Carbohydrates, Fructose, and Lipids. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology*. 2017, 187-200.
112. Wosinska, L., Cotter P.D, O'Sullivan O., et al. The Potential Impact of Probiotics on the Gut Microbiome of Athletes. *Nutrients*. 2019, 11(10).
113. Wu, G.D., Chen J., Hoffmann C., et al. Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science*. 2011, 334(6052), 105-108.
114. Yano, J.M., Yu K., Donaldson G.P., et al. Indigenous Bacteria from the Gut Microbiota Regulate Host Serotonin Biosynthesis. *Cell*. 2015, 161(2), 264-276.
115. Yeshi, K., Ruscher R., Hunter L., et al. Revisiting Inflammatory Bowel Disease: Pathology, Treatments, Challenges and Emerging Therapeutics Including Drug Leads from Natural Products. *Journal of Clinical Medicine*. 2020, 9(5).
116. Zaibi, M.S., Stocker C.J., O'Dowd J., et al. Roles of GPR41 and GPR43 in leptin secretory responses of murine adipocytes to short chain fatty acids. *FEBS Letters*. 2010, 584(11), 2381-2386.

117. Zheng, D., Liwinski T., Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*. 2020, 30(6), 492-506.
118. Zoetendal, E.G., Raes J., van der Bogert B., et al. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. *The ISME Journal*. 2012, 6(7), 1415-1426.