

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vztah mezi chuťovými preferencemi a střevní mikrobiotou**

**Diplomová práce**

**Bc. Maria Davydova**

**Výživa a potraviny**

**prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.**

**© 2023 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vztah mezi chuťovými preferencemi a střevní mikrobiotou" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. 4. 2023

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala mé vedoucí práce prof. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za její podporu, vedení a konstruktivní zpětnou vazbu. Dále Ing. Haně Šubrtové Salmonové, Ph.D. za odbornou konzultaci a pomoc při vyhledávání informačních zdrojů, doc. Ing. Věře Nežil Bunešové, Ph.D. za její konzultaci výsledků analýzy mikrobioty, Ing. Renatě Kunstové, za její čas a pomoc s předáváním pomůcek dobrovolníkům, Bc. Anně Liškové za její ochotu a spolupráci v laboratoři. Také bych chtěla poděkovat všem respondentům, kteří se podíleli na průzkumu a zejména všem dárčům, kteří poskytli vzorek stolice pro analýzu. Neposlední důležité poděkování patří mé rodině a příteli za jejich morální podporu, bez které by tato práce nebyla možná.

# Vztah mezi chuťovými preferencemi a střevní mikrobiotou

## Souhrn

Výběr potravin je složitý proces, který může být ovlivněn různými faktory, jako jsou kultura, tradice, dostupnost, ekonomické podmínky, zdravotní aspekty a osobní preference. Nedávné výzkumy ukazují, že střevní mikrobiota může mít významný vliv na zdraví a chování hostitele. Střevní mikrobiota se může podílet na vzniku mnoha zdravotních problémů, včetně obezity, cukrovky a autoimunitních onemocnění. Kromě toho se také ukazuje, že střevní mikrobiota může ovlivňovat chování hostitele, například prostřednictvím toho, jakým způsobem vnímáme chuť potravin.

V této souvislosti byla provedena práce, která se zaměřila na vztah mezi střevní mikrobiotou a chuťovými preferencemi. V první části práce byla prostudována odborná literatura, která se věnuje formování a změnám složení střevní mikrobioty člověka, vzniku chuťových preferencí a možným vlivům střevní mikrobioty na potravinové chování člověka.

V druhé části práce byl proveden dotazníkový výzkum, kterého se zúčastnilo 95 respondentů ve věku 19 – 27 let. Respondenti byli požádáni o vyjádření preference potravin reprezentujících různé chutě. Výsledky ukázaly, že nejoblíbenější chutí byla sladká chuť, zatímco nejméně oblíbenou chutí byla pálivá chuť. V dalším kroku byla provedena analýza složení mikrobioty stolice u 5 respondentů a zkoumána korelace mezi složením mikrobioty a preferencemi chutí. Byla zjištěna pouze korelace mezi hořkou chutí a složením mikrobioty, zatímco žádná statisticky významná korelace mezi preferencemi potravin určité chuti a vyšším zastoupením určité skupiny mikrobů ve stolici jedince nebyla nalezena.

Do budoucna je zapotřebí provést analýzu více vzorků stolice a zaměřit se na preference přímo chutí nikoliv preference potravin.

Výzkum vztahu mezi střevní mikrobiotou a chuťovými preferencemi člověka je poměrně novým oborem výzkumu. I když existuje stále více důkazů, že složení mikrobioty může hrát důležitou roli v našich preferencích vůči určitým chutím, zatím není dostatečný počet studií, které by potvrdily tuto hypotézu. Právě proto je důležité pokračovat v tomto výzkumu a rozšířit počet respondentů a vzorků, aby bylo možné získat více informací o tom, jak střevní mikrobiota ovlivňuje naše chuťové preference.

**Klíčová slova:** střevní mikrobiota, osa střevo – mozek, ovlivňování chování hostitele střevní mikrobiotou, chuťové preference, hořká chuť



# Relationship between taste preferences and intestinal microbiota

## Summary

Food choice is a complex process that can be influenced by various factors such as culture, tradition, availability, economic conditions, health aspects and personal preferences. Recent research shows that the gut microbiota can have a significant impact on host health and behaviour. Gut microbiota may be involved in the development of many health problems, including obesity, diabetes and autoimmune diseases. In addition, it also appears that the gut microbiota can influence host behaviour, for example, through how we perceive food tastes.

In this context, work has been carried out to investigate the relationship between gut microbiota and taste preferences. In the first part of the thesis, the literature on the formation and changes in the composition of the human gut microbiota, the emergence of taste preferences and the possible effects of the gut microbiota on human food behaviour were studied.

In the second part of the thesis, a questionnaire survey was conducted with 95 respondents aged 19 – 27 years. Respondents were asked to express their preference for foods representing different tastes. The results showed that the most popular taste was sweet taste while the least popular taste was spicy taste. Next, the stool microbiota composition of 5 respondents was analyzed and the correlation between microbiota composition and taste preferences was investigated. Only a correlation was found between bitter taste and microbiota composition, while no statistically significant correlation was found between food preference for a particular taste and higher abundance of a particular group of microbes in an individual's stool.

In the future, more stool samples should be analysed and focus on taste preferences rather than food preferences.

Research on the relationship between the gut microbiota and human taste preferences is a relatively new field of research. Although there is increasing evidence that the composition of the microbiota may play an important role in our preferences for certain tastes, there is not yet a sufficient number of studies to confirm this hypothesis. This is why it is important to continue this research and to expand the number of respondents and samples in order to gain more information on how the gut microbiota influences our taste preferences.

**Keywords:** gut microbiota, gut-brain axis, host behaviour influenced by gut microbiota, taste preferences, bitter taste

## Obsah

1	Úvod.....	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	9
2.1	Cíl práce .....	9
2.2	Hypotéza .....	9
3	Literární rešerše .....	10
3.1	Střevní mikrobiota.....	10
3.1.1	Složení střevní mikrobioty .....	10
3.1.2	Formování a změny složení střevní mikrobioty .....	11
3.1.3	Funkce střevní mikrobioty v organismu .....	12
3.1.4	Vliv střevní mikrobioty na kognitivní funkce mozku.....	13
3.2	Chuť .....	13
3.2.1	Výběr potravin .....	14
3.3	Potenciální mechanismy ovlivňování chování hostitele střevní mikrobiotou.....	14
3.3.1	Neuroanatomické dráhy .....	14
3.3.2	Vliv stravy na mikrobiotu .....	15
3.3.3	Mikroorganismy mohou ovlivnit chování hostitele.....	16
3.3.4	Ovlivnění hostitele prostřednictvím hormonů produkovaných bakteriemi .....	16
3.3.5	Vztah mezi střevní mikrobiotou a hedonickým příjmem potravy .....	17
3.3.6	Vztah střevní mikrobioty a obezity.....	18
4	Materiál a metody .....	19
4.1	Dotazníkový průzkum .....	19
4.2	Izolace mikrobiální DNA pomocí izolační sady QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit 20	
4.3	Analýza DNA.....	21
5	Výsledky .....	23
5.1	Dotazníkový průzkum .....	23
5.2	Rozboř mikrobioty stolice dárců .....	24
6	Diskuze .....	33
7	Závěr .....	35
8	Literatura.....	36
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	40
10	Samostatné přílohy .....	41



# 1 Úvod

Střevní mikrobiota je složitý systém bakterií, virů a hub, který obývá náš trávicí trakt a má klíčovou funkci v trávení, syntéze vitamínů a podpoře imunitního systému. Nedávný výzkum ukazuje, že střevní mikrobiota může mít také vliv na naše chuťové preference. Určité druhy bakterií v mikrobiotě produkují neurotransmitery, jako je serotonin, které mohou ovlivnit naše chuťové preference a náladu. Mikrobiota také produkuje hormony, jako je ghrelin a leptin, které signalizují našemu mozku, kdy jsme hladoví nebo sytí (Leung & Covasa 2021).

Změny ve složení střevní mikrobioty mohou vést ke změnám v našich chuťových preferencích a mohou mít vliv na náchylnost ke konzumaci potravin s vysokým obsahem tuku a cukru, což může přispět k nadváze a metabolickým poruchám (Alcock et al. 2014). Výzkum také ukazuje, že složení střevní mikrobioty může být odlišné u lidí s některými nemocemi, jako jsou depresivní poruchy a autismus, což může mít vliv na jejich chuťové preference (Wang & Wang 2016). Tento výzkum ukazuje, že manipulace složením střevní mikrobioty může být potenciálně terapeutickou strategií pro tyto nemoci

Cílem výzkumu v oblasti střevní mikrobioty a chuťových preferencí je lépe porozumět tomu, jak mikrobiota ovlivňuje naše chuťové preference a jak lze ovlivňovat složení mikrobioty, aby se zabránilo vzniku některých zdravotních problémů a nemocí.

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

### **2.1 Cíl práce**

Cílem práce bylo zjistit, zda existuje souvislost mezi složením lidské střevní mikrobioty a preferencí jedinců k základním chutím a určitým typům jídel.

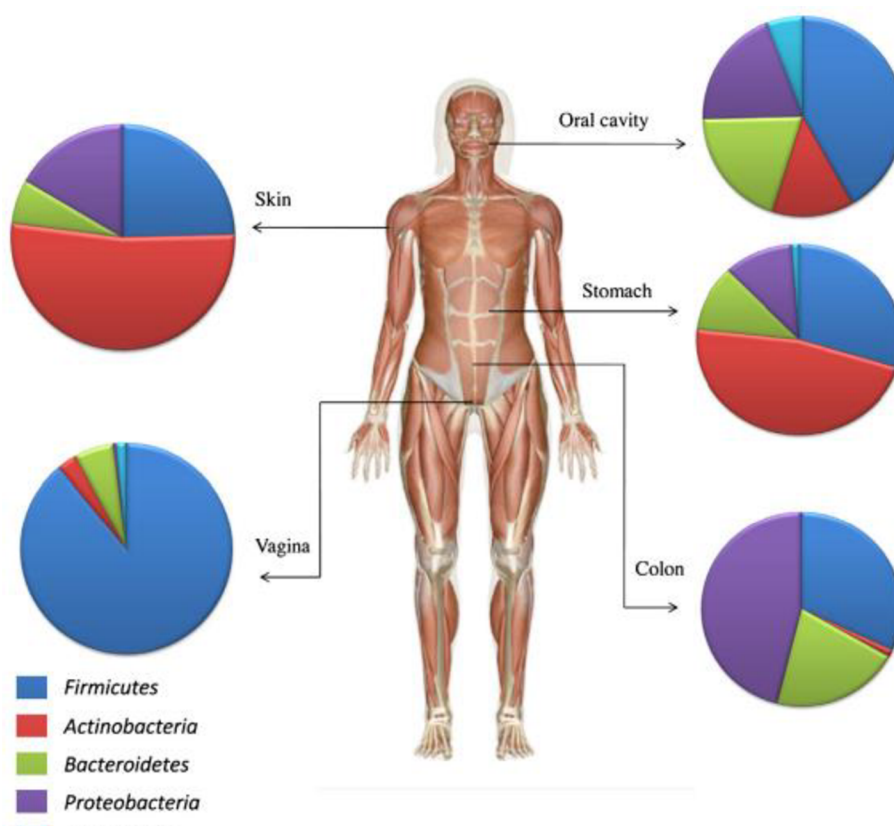
### **2.2 Hypotéza**

Preference určité chuti souvisí se složením střevní mikrobioty.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Střevní mikrobiota

Lidské tělo obsahuje na svém povrchu a v tělních dutinách biliony mikroorganismů (Leung & Covasa 2021), přičemž 80 % z toho množství se nachází ve střevech (Wang & Wang 2016). Často se tvrdí, že v lidském těle převyšují bakterie lidské buňky minimálně desetkrát. Avšak po bližším zkoumání zjistíme, že skutečný poměr je mnohem blíže rovnosti, tedy jedna k jedné (Sender et al. 2016). Díky plnění důležitých metabolických funkcí v těle byla střevní mikrobiota dokonce označena za neviditelný orgán (Leung & Covasa 2021).



**Obrázek 1: Rozmístění bakteriálních kmenů v různých oblastech lidského těla**  
(zdroj obrázku: Sankar et al. 2015)

#### 3.1.1 Složení střevní mikrobioty

Složení mikrobioty, která se nachází ve střevech savců, je jedinečné u každého jedince a odlišuje se od mikrobiálních společenstev volně žijících organismů. Genetická rozmanitost mikrobiomu každého jedince je velmi rozsáhlá, až 80-90 % složení střevní mikrobioty se liší od ostatních jedinců (Cooper et al. 2019).

Celkový počet mikroorganismů v trávicím traktu činí  $4 \times 10^{13}$  (Leung & Covasa 2021). Mikroorganismy v trávicím traktu člověka jsou nejvíce soustředěny v tlustém střevě, a především tvořeny různými druhy bakterií, hlavně anaerobními. Kromě bakterií jsou také přítomny archea, eukaryota a viry (Sankar et al. 2015; Wang & Wang 2016).

Největší podíl bakterií v lidské střevní mikrobiotě tvoří kmeny Firmicutes a Bacteroidetes. Ve vzorcích stolice zdravých osob bylo identifikováno celkem 155 bakteriálních organismů a 2 patří k archea, které tvoří základ střevní mikrobioty. Tyto organismy náleží do 8 kmenů, 18 čeledí, 23 tříd, 38 řádů, 59 rodů a 109 druhů. Většina bakteriálních druhů patří ke kmenům Firmicutes 63 (40 %), Actinobacteria 32 (20 %) a Bacteroidetes 31 (19,7 %). Více než polovina zastoupených bakterií kmenu Firmicutes patří do třídy *Clostridia* (20,3 %), která je nejhojnější, následuje *Bacteroidia* (18,5 %), *Bifidobacteriales* (16,6 %), *Enterobacterales* (14 %) a *Lactobacillales* (14 %). Všichni zástupci *Clostridia* ve vzorcích jsou členy řádu *Clostridiales* a všechny *Bacteroidia* patří do *Bacteroidales*, tyto dva řády jsou nejhojnější. Dvacet sedm organismů jsou zástupci čeledi *Bifidobacteriaceae*, a 26 z nich patří k *Bifidobacterium longum*, což je nejhojnější druh (King et al. 2019).

K identifikaci mikrobiální diverzity ve vzorku se často využívá PCR amplifikace genu 16S rRNA, která je následně porovnávána s fylogenetickým referenčním stromem, například v rámci projektu Ribosomal Database Project (RDP) (Subramanian et al. 2018).

### 3.1.2 Formování a změny složení střevní mikrobioty

Během těhotenství si plod všímá vůně, a dokonce i chuti plodové vody. Když tuto tekutinu poprvé ochutná, má to zásadní vliv na vývoj trávicího traktu z morfologického hlediska (Buchanan & Bohórquez 2018). Po narození se okamžitě začíná kolonizace střev bakteriemi, jsou to převážně fakultativní anaeroby, jako jsou enterobakterie, koliformní bakterie a laktobacily. Bifidobakterie jsou dominantní anaerobní bakterie v mikrobiotě střev od raného dětství až do stáří. Jejich počet se však snižuje s věkem a složení bakterií v mikrobiotě se mění. Střevní mikrobiota matky poskytuje zdroj těchto bakterií novorozencům, ale kolonizace střev je také ovlivněna okolím (Saarela et al. 2002). Člověk získává původní složení střevní mikrobioty během prvních let života a složení střevní mikrobioty kojenců je ovlivněno různými faktory, například způsobem porodu (císařský řez nebo vaginální porod), mikrobiologickou kontaminací (González-Arancibia et al. 2019) nebo způsobem výživy dítěte, zda bylo kojeno, nebo mu bylo podáváno umělé mléko (Valente et al. 2020). Pokud jsou děti narozeny císařským řezem, kolonizace bakteriemi z nemocničního prostředí nemá tak silný stimulační účinek na vývoj mikrobioty a střevní lymfoidní tkáň. Strava může mít také vliv na složení střevní mikrobioty. U kojenců, kteří jsou kojeni, převažují bifidobakterie a specifické kmeny bifidobakterií. Kojenci krmení umělou výživou mají mikrobiotu podobnou mikrobiotě dospělých a obsahuje bifidobakterie, enterobakterie, laktobacily, bakteroidy, klostridie a enterokoky. Po odstavení se složení mikrobioty podobá složení dospělého jedince (Saarela et al. 2002). Složení zdravé mikrobioty se může lišit v závislosti na věku jedince, jeho genetických faktorech, prostředí, stravě a také struktuře střevní stěny (Valente et al. 2020). Složení střevní mikrobioty není konstantní a mění se zvyšujícím věkem. Tyto změny jsou mezi jednotlivci rozdílné a mohou významně ovlivnit zdraví jednotlivců, dojde-li k poklesu počtu prospěšných bakterií. Existuje několik faktorů, jako jsou infekce, léky, nemoci a strava, které mohou ovlivnit složení střevní mikrobioty (Wang & Wang 2016).

### 3.1.3 Funkce střevní mikrobioty v organismu

Střevní mikrobiota plní mnoho funkcí v lidském těle. Zaprvé tvoří střevní bariéru v trávicím traktu. Podporuje regeneraci epitelálních buněk střev a produkuje hlen, který chrání sliznici. Dále produkuje mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA), které poskytují výživu sliznici (Wang & Wang 2016).

Vědecké studie ukázaly, že SCFA jsou rozpoznávány receptory spřaženými s G-proteiny, konkrétně GPR-41 a GPR-43. Aktivace těchto receptorů způsobuje uvolňování peptidů v trávicím traktu, které ovlivňují metabolismus glukózy nebo příjem potravy, jako jsou například glukagonu podobný peptid-1 nebo peptid YY (PYY) (Cani 2018).

Střevní mikrobiota se také podílí na vývoji imunitního systému a stimuluje jak vrozený, tak získaný imunitní systém. Hraje také roli v syntéze a metabolismu některých živin, hormonů a vitaminů a pomáhá odstraňovat léky a toxiny z těla (Wang & Wang 2016).

V tlustém střevě jsou většinou přítomny striktně anaerobní bakterie, které získávají energii fermentací sacharidů a nestravitelných substrátů, jako je vláknina. Výslednými metabolity jsou SCFA, zejména acetát, propionát a butyrát, které poskytují energii epitelálním buňkám a přispívají k homeostáze hostitele. Butyrát má také vliv na růst a diferenciaci epitelálních buněk (Alonso et al. 2013).

Butyrát je důležitým zdrojem energie pro buňky tlustého střeva a má pozitivní účinky na zdraví. Pomáhá snižovat riziko rakoviny tlustého střeva tím, že může způsobit apoptózu rakovinných buněk. Dále také podporuje glukoneogenezi v trávicím traktu, což pomáhá udržovat rovnováhu glukózy a energetickou homeostázu. Butyrát je také nezbytný pro to, aby buňky střevního epitelu spotřebovávaly kyslík prostřednictvím  $\beta$ -oxidace a udržovaly hypoxický stav, který je důležitý pro udržení zdravé střevní mikrobioty (Valdes et al. 2018).

Propionát putuje do jater, kde reguluje proces glukoneogeneze a signalizaci sytosti prostřednictvím receptorů pro mastné kyseliny v játrech. Acetát, který je nejčastější SCFA a základním metabolitem pro růst dalších bakterií, se dostává do periferních tkání, kde se využívá v metabolismu cholesterolu a lipogenezi a může hrát roli v centrální regulaci chuti k jídlu. Randomizované kontrolované studie ukazují, že vyšší produkce SCFA souvisí s nižší obezitou způsobenou dietou a sníženou inzulínovou rezistencí. Butyrát a propionát, nikoli acetát, se zdají ovlivňovat střevní hormony a snižovat chuť k jídlu a příjem potravy u myši. Enzymy střevní mikroflóry pomáhají s metabolismem žlučových kyselin a vytvářejí nekonjugované a sekundární žlučové kyseliny, které působí jako signální molekuly a regulátory metabolismu hostitele (Valdes et al. 2018).

Imunitní tkáň v gastrointestinálním traktu tvoří největší a nejsložitější část lidského imunitního systému. Střevní epitelové buňky jsou v úzkém kontaktu s obsahem střeva a hrají klíčovou roli při signalizaci a zprostředkování imunitní odpovědi hostitele. Většina protilátek v těle je produkována v *lamina propria* střeva, především IgA. Střevní sliznice je velkou plochou vystavena antigenům z prostředí a střevní bakterie hrají rozhodující roli při vývoji silného a vyváženého imunitního systému. Některé bakterie stimulují imunitní odpovědi a potlačují prozánětlivé reakce, zatímco jiné jsou patogenní a vyvolávají infekce. Imunitní homeostáza ve střevě je regulována složitými mechanismy, včetně fenoménu "orální



tolerance" a účasti slizničních regulačních T-buněk. U bezmikrobních (germ free) myši jsou imunitní funkce snižené a jsou náchylné k infekcím. Tyto myši mají nízkou hustotu lymfoidních buněk ve střevní sliznici a nízké hladiny sérových Ig, a nemají normální adaptaci na dietní antigeny. Mikrobiota také ovlivňuje proliferaci a diferenciaci epitelálních buněk a moduluje některé neuroendokrinní dráhy (Alonso et al. 2013).

Vedle uvedených funkcí jsou střevní bakterie důležitými regulátory střevní motility, vnímání viscerální bolesti a je v úzké souvislosti s vývojem a funkcemi centrální nervové soustavy (CNS) (González-Arancibia et al. 2019).

### **3.1.4 Vliv střevní mikrobioty na kognitivní funkce mozku**

Mimořádná situace v oblasti veřejného zdraví přitáhla pozornost k možnému vztahu mezi střevní mikrobiotou a mozkiem. V roce 2000 došlo v kanadském městě Walkerton k povodni, která způsobila znečištění pitné vody bakteriemi *Escherichia coli* a *Campylobacter jejuni*. Po 8 letech byli někteří infikovaní lidé opětovně vyšetřeni a u 1166 z nich byl diagnostikován syndrom dráždivého tračníku (IBS). U těchto pacientů byly zjištěny úzkost a deprese jako nezávislé rizikové faktory pro pokračující IBS. V té době však vědci neurologické interakce mezi střevní mikrobiotou a mozkiem nebrali vážně (Wang & Wang 2016).

## **3.2 Chut'**

Chuť patří mezi pět základních smyslů a má klíčový význam při určování složení potravin. Pomáhá identifikovat nejen živiny, ale také potenciálně škodlivé látky v jídle (Turner et al. 2018). Tradičně se uvádí pět základních chutí: sladká, slaná, kyselá, hořká a umami. Existují však také další chuti, jako například pikantní (Gravina et al. 2013). I když je to stále předmětem diskuze, naše chuťové buňky jsou také schopny rozpoznat chuť tučnou (Leung & Covasa 2021).

Chuťové receptory v našich ústech rozpoznávají různé chemické látky a podle toho vyvolávají různé chuťové zážitky. Například slané a kyselé látky jsou rozpoznávány slanými a kyselými iontovými kanály, zatímco chuťové receptory typu 1 (T1R) rozpoznávají sacharidy, sladidla a bílkoviny. Hořká chuť je zprostředkována chuťovými receptory typu 2 (T2R), které jsou schopné detekovat tisíce hořkých molekul a chrání nás před potenciálně škodlivými látkami v potravinách. Lidé exprimují 25 různých T2R, které mají různou citlivost na hořkost a jsou schopny rozpoznat širokou škálu hořkých sloučenin. Geny pro tyto receptory jsou potenciálně polymorfni, což vede k různým fenotypům. Hořké receptory se podílejí nejen na rozpoznávání toxinů v potravinách, ale také mohou ovlivnit příjem jiných potravin, jako je zelenina obsahující hořké sloučeniny. Lidé s větší citlivostí na hořkost mohou mít tendenci vyhýbat se těmto zdravým potravinám a zvyšovat svůj příjem sacharidů, což může vést k nadváze. Proto jsou T2R důležitým předmětem výzkumu, který může vést k novým terapeutickým postupům (Turner et al. 2018).

Sladká chuť patří mezi nejpříjemnější chuťové vlastnosti a je spojována s potravinami s vysokým obsahem sacharidů. Tuto chuťovou vlastnost máme zakódovanou v genech *tas1R2* a *tas1R3* a dokonce i novorozenci vykazují pozitivní reakce při konzumaci sladkých roztoků (Gravina et al. 2013).

### 3.2.1 Výběr potravin

Chuť jídla poskytuje zvířatům informace o jeho nutriční hodnotě, stimuluje trávicí reakce a může vyvolat příjemný pocit, který podněcuje přijímání potravy, i když není nutně potřeba. Chuťové a pachové signály mohou společně sloužit jako podmíněné signály odměny, které podněcují přijímání potravy. Většina chuťových preferencí je naučená, ale některé preference mohou být vrozené a mohou být posíleny postorálním působením potravin nebo naopak přeměněny na averzi, pokud jsou spojeny s toxickými účinky (Sclafani & Ackroff 2012).

Genetika může také ovlivňovat schopnost vnímat jiné chuťové vlastnosti, jako jsou tuky nebo vůně. Každý člověk má své vlastní potravinové preference, které jsou ovlivněny jak vrozenými preferencemi, tak zkušenostmi s jídlem a sociálními interakcemi. Tyto preference se mohou také měnit v průběhu života a mohou být ovlivněny věkem a změnami ve smyslovém vnímání (Ueland et al. 2020).

Výběr potravin je složitý proces, který je ovlivněn mnoha faktory. Například spotřeba ekologických potravin je spojena s etickými hodnotami a postoji k udržitelnosti a zdraví. Rozdíly v osobnostech, rozhodovacích stylech a motivaci také vedou k rozdílnému chování spotřebitelů. Psychologické faktory jako je neofobie (neochota zkoušet nové potraviny) a neofilie (ochota zkoušet nové potraviny) jsou také důležitými determinanty výběru potravin. Rozdíly v kognitivním stylu a emocích jsou dalšími faktory ovlivňujícími výběr jídla. Stejná osoba může mít odlišné preference v různých situacích, což znamená, že spotřebitelé jsou různorodé osobnosti, které reagují na situace různými způsoby (Ueland et al. 2020).

### 3.3 Potenciální mechanismy ovlivňování chování hostitele střevní mikrobiotou

Mnoho lidí se snaží odolat chuti na nezdravé potraviny s vysokým obsahem cukru a tuku, které mohou vést k zdravotním problémům, jako je obezita, cukrovka a rakovina. I když se snažíme změnit své stravovací návyky, často se nám to nedaří kvůli nedostatku sebekontroly. Autoři článku však navrhují alternativní možnost - že evoluční konflikt mezi hostitelem a mikroby ve střevě vede k rozdílným zájmům o stravovací chování hostitele. To znamená, že střevní mikroby mohou manipulovat s naším stravovacím chováním tak, aby to bylo v jejich prospěch na úkor našeho zdraví. To může být další faktor, který způsobuje, že se nám nedaří změnit své stravovací návyky (Alcock et al. 2014).

#### 3.3.1 Neuroanatomické dráhy

Mezi střevem a mozkiem existují dvě nervové dráhy, které umožňují výměnu informací. První zahrnuje autonomní nervový systém a bloudivý nerv, které jsou propojené přímo a umožňují obousměrnou komunikaci. Druhá dráha zahrnuje střevní nervový systém, autonomní nervový systém a bloudivý nerv, a umožňuje také obousměrnou komunikaci. Funkce střeva jsou řízeny čtyřmi úrovněmi organizace: první úroveň tvoří enterický nervový systém (ENS), druhou prevertebrální ganglia, třetí autonomní nervový systém a vagový nerv a čtvrtou vyšší mozková centra. Dorzální motorické jádro vagového nervu hraje důležitou roli při regulaci horní části gastrointestinálního traktu. Aferentní vlákna vagového nervu a míchy dosahují do různých částí mozku, které řídí funkce střeva, jako jsou thalamus, limbický lalok, insulární kůra a jádra mozkového kmene. Střevní mikrobiota může přímo stimulovat aferentní

neurony ENS a ovlivňovat mozkové funkce prostřednictvím vagového nervu (Wang & Wang 2016).

Střevní mikrobiota je součástí osy spojující střevo a mozek a má klíčový vliv na stravovací chování (De Wouters d'Oplinter, 2021). Osa střevo – mozek je pojem, který se užívá k popisu interakcí střevní mikrobioty s mozkem. Dané interakce mají za následek změny v centrální nervové soustavě (CNS) (Ma et al. 2019). Ze střeva do mozku je posíláno velké množství interoceptivních informací. Mnoho z nich není zpracováno vědomě, ale v rámci širšího systému interoceptivních informací přicházejících z těla jako celku. Přenesením těchto informací do centrálního nervového systému tak může střevo hrát klíčovou roli při generování somatických markerů. Obousměrná komunikace mezi střevní mikrobiotou a mozkem může probíhat přes četné fyziologické kanály, včetně neuroendokrinních a neuroimunitních drah a autonomního nervového systému. Bakterie nacházející se ve střevě mohou produkovat neurotransmitery, které lze nalézt také v centrálním nervovém systému (Allen et al. 2017). Ukázalo se, že střevní mikrobiota se podílí na produkci hormonů sytosti, neurotransmiterů (GABA, dopamin, serotonin) a komunikaci prostřednictvím bloudivého nervu (De Wouters et al. 2021). Bloudivý nerv spojuje 100 milionů neuronů enterické nervové soustavy ve střevech s prodlouženou míchou v mozku. Receptory neuronů ve střevech přijímají signály bakterií a jejich metabolitů, například mastných kyselin s krátkým řetězcem (Alcock et al. 2014), produkovaných například *Lactobacillus brevis*. Tato obousměrná komunikace mezi mozkem a střevní mikrobiotou může mít dopad na stres a na kognitivní funkce (Allen et al. 2017).

### 3.3.2 Vliv stravy na mikrobiotu

Ukázalo se, že četnost jednotlivých zástupců střevní mikrobioty je závislá na složení přijímané potravy. Například bakterie rodu *Prevotella* prosperují díky sacharidům, vláknina poskytuje konkurenční výhody bakteriím rodu *Bifidobacteria*, bakterie kmenu Bacteroidetes vyžadují v substrátu přítomnost tuků. Obecně je prokázáno, že vybrané bakterie jsou schopné lepší prosperity než jiní zástupci v přítomnosti určité kombinace výživových složek (Alcock et al. 2014). Mikroorganismy mohou také soutěžit mezi sebou. Pokud je populace bakterií různorodější, soutěží o více zdrojů než populace s menší rozmanitostí (Valente et al. 2020).

Živiny ovlivňují složení bakterií ve střevě. To znamená, že to, co jíme, ovlivňuje, jaké bakterie se v našem trávicím traktu nacházejí. Když hladovíme nebo hodujeme, dojde k výrazným změnám ve složení bakterií. Například během hladovění se vyskytuje více bakterií z rodů *Bacteroides*, *Rikenella*, *Synergistes* a *Akkermansia*, zatímco při přijímání potravy se více vyskytují bakterie z rodů *Clostridium*, *Lactobacillus* a čeledi *Peptostreptococcaceae*. Lidé mají tendenci mít více druhů *Bacteroides* v reakci na fruktany, což jsou druhy cukrů v potravě. Bakterie využívají hybridní senzor, který se váže na fruktózu a umožňuje jim využívat různé druhy fruktanů (Norris et al. 2013).

Srovnání střevní mikrobioty afrických dětí, které se stravují potravinami s vysokým obsahem vlákniny a nízkým obsahem tuku, s evropskými dětmi, kteří konzumují moderní stravu, ukázalo, že první mají více bakterií kmenu Bacteroidetes a méně bakterií kmenu Firmicutes, zejména pak *Prevotella* a *Xylanibacter*. Z toho vyplývá, že střevní mikrobiota afrických dětí se koevolučně přizpůsobila k jejich stravě bohaté na polysacharidy, aby jim

pomohla maximalizovat příjem energie z vlákniny a chránila je před záněty a onemocněním tlustého střeva. Nicméně, podávání nízkotučné stravy s vysokým obsahem sacharidů po dobu 10 dnů skupině subjektů, kteří měli enterotyp *Bacteroides*, nevedlo k přechodu na enterotyp *Prevotella* (Norris et al. 2013).

Složky potravin mohou interagovat s lidským genomem přímo nebo nepřímo přes střevní mikrobiální metagenom. Například polynenasycené mastné kyseliny mohou přímo vázat na určité transkripční faktory, které ovlivňují genovou expresi. Jde o nejpřímější interakci mezi složkou potravy a genomem hostitele. Na druhé straně oligosacharidy obsažené v lidském mléce podporují růst zdravých prospěšných bakterií ve střevě kojence a ovlivňují tak metabolismus hostitele. Jedná se o nepřímou, ale silnou interakci mezi složkami potravy a genomem hostitele zprostředkovanou střevní mikrobiotou, která vytváří symbiotický vztah mezi složkami potravy a střevními bakteriemi (Kusmann & Van Bladeren 2011).

Pokud je naše mikrobiota málo rozmanitá, může to zvýšit riziko chronických onemocnění. Je důležité, abychom jedli stravu bohatou na vlákninu, která podporuje rozmanitost mikrobioty a zvyšuje produkci prospěšných látek. Prebiotika a probiotika také mohou pomoci zlepšit zdraví střev a snížit záněty. Nicméně, reakce na změny stravy mohou být velmi individuální a závisí na výchozím stavu mikrobioty, proto je důležité personalizovat stravu pro každého jednotlivce (Doré & Blottière, 2015).

Studie lidské mikrobioty jsou důležité pro potvrzení a doplnění výsledků získaných ze studií na modelových organismech. Avšak, uskutečňování kontrolních studií u lidí je náročné, protože je těžké kontrolovat jejich prostředí po dlouhou dobu a zkoumat vliv jediné proměnné, například stravy (Davenport et al. 2014).

### **3.3.3 Mikroorganismy mohou ovlivnit chování hostitele**

Je tu několik nepřímých důkazů, že složení střevní mikrobioty může ovlivňovat naše chutě k jídlu. Například studie Rezzi et al. (2007) ukázala, že lidé, kteří mají chuť na čokoládu, produkují jiné mikrobiální metabolity v moči než ti, kteří o čokoládu nemají zájem, i když jí stejnou stravu. Také existují důkazy o vlivu mikrobů na naši náladu. V jedné studii bylo zjištěno, že u lidí se špatnou náladou pomohlo užívání probiotika *Lactobacillus casei* výrazně zlepšit náladu. Tato studie byla dvojitě zaslepená, randomizovaná a kontrolovaná placebem (Alcock et al. 2014).

### **3.3.4 Ovlivnění hostitele prostřednictvím hormonů produkovaných bakteriemi**

Střevní mikrobiota se podílí na sekreci periferních anorexigenních hormonů, jakými jsou glukagonu podobný peptid 1 (GLP-1), peptid YY (PYY), inzulín a leptin, které zvyšují pocit sytosti, nebo taky ghrelin, který je schopen regulovat pocit hladu (Van de Wouw et al. 2017). Při řízení přijímání potravy jsou v hypotalamu přítomny dvě skupiny neuronů, které mají protichůdné účinky. První skupina neuronů exprimuje proopiomelanokortin (POMC), zatímco druhá skupina exprimuje Agouti-related peptide (AgRP)/ Neuropeptide Y (NPY) (Allen et al. 2017). Tyto hypotalamické neurony se promítají do jiných mozkových okruhů, jako je mezolimbický okruh odměn, který se výrazně podílí na odměně za jídlo, závislosti a impulzivním výběru (Van de Wouw et al. 2017).

Mikroorganismy produkují chemikálie, které jsou podobné hormonům savců, ovlivňujícím náladu a chování. V těle se více než 50 % dopaminu a většina serotoninu produkuje v trávicím traktu. Dopamin produkují různé bakterie, včetně *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris* a další. Koncentrace dopaminu v těchto bakteriích jsou výrazně vyšší než v lidské krvi. Některé bakterie vylučují neurotransmitery, které interagují se savčími buňkami. Transplantace mikrobiomu od samce na samici zvyšuje hladinu testosteronu u příjemce. Hostitelské enzymy dokáží degradovat bakteriální neurotransmitery, což může být důkazem selekce hostitele proti mikrobiální signalizaci (Alcock et al. 2014).

Některé druhy probiotik mohou ovlivňovat hladiny dalších neurochemikálií v těle. Například kmen *B. infantis* 35624 zvyšuje hladinu tryptofanu v krvi, což je prekurzor serotoninu - látky zodpovědné za náladu a chování. Bakterie, které se nacházejí v mateřském mléce a jogurtu a produkují kyselinu mléčnou, také produkují neurochemikálie histamin a kyselinu gama-aminomáselnou (GABA). GABA aktivuje stejné neuroreceptory jako léky proti úzkosti, jako je valium a další benzodiazepiny (Alcock et al. 2014).

GABA je látkou, která se vytváří z glutamátu v potravě a působí jako neurotransmiter, což umožňuje komunikaci mezi gastrointestinálním traktem a mozkem. Většina kmenů laktobacilů a bifidobakterií má geny nazvané *Gad*, které mohou kódovat glutamát dekarboxylázu pro výrobu GABA. U pacientů s obezitou se pozoruje nižší výskyt mikroorganismů, kteří dokážou fermentovat glutamát, a zároveň zvýšená hladina cirkulujícího glutamátu. To naznačuje, že střevní mikrobiota ovlivňuje energetickou rovnováhu hostitele prostřednictvím modulace metabolismu glutamátu. Tuto hypotézu potvrzují různé studie, které byly provedeny na bezmikrobních, gnotobiotických a humanizovaných myších (Han et al. 2021).

Psychický stres zvyšuje hladiny hormonů noradrenalinu a adrenalinu, které mají hlavní úlohu při reakci "útěk nebo boj" u vyšších živočichů. Tyto hormony ovlivňují růst bakterií tím, že vyplavují železo nebo indukují produkci autoinduktorů. Výzkum ukázal, že katecholaminy vyvolávají největší odezvu u parodontálních patogenů v dutině ústní, což je spojeno s onemocněním dásní. Přemnožení některých druhů bakterií, jako je *Escherichia coli*, může být zodpovědné za střevní infekce po chirurgickém zákroku. Důležité je, že noradrenalin, adrenalin a dopamin zvyšují růst komenzálních *E. coli in vitro* o více než 4 řády (Norris et al. 2013).

### **3.3.5 Vztah mezi střevní mikrobiotou a hedonickým příjmem potravy**

Mechanismus příjmu potravy za účelem získání požitku a uspokojení chuťových preferencí se často přehlíží. Za hlavní příčiny pozitivní kalorické bilance způsobující přibírání na váze a ukládání tuku se považují přejídání a konzumace potravy bohaté na tuky. Jídlo se stává odměnou a potřeba pocitu potěšení z jídla – je hlavní příčinou příjmu potravy. Chutné jídlo bohaté na tuky a cukry může stimulovat dopaminergní neurony a spustit produkci dopaminu, hlavně v kortiko-limbických oblastech mozku. Avšak obezita, která je výsledkem dlouhodobého přejídání bývá spojovaná se snížením koncentrace dopaminu jako reakce na chutné jídlo a snížením regulace dopaminergních markerů. Dochází ke snížení funkcí receptorů dopaminu a produkce enzymu tyrosin hydroxylázy (TH), přičemž počet přenašečů dopaminu roste. Tato hypofunkce se stává začarovaným kruhem. Ve snaze získat od příjmu

potravy stejný požitek jako před vývojem obezity se porce jídla obsahujícího tuk a cukr stále zvětšují (De Wouters et al. 2021).

Z výsledků experimentů na myších vychází předpoklad, že dlouhodobá konzumace potravy bohaté na tuky vede ke snížení vnímání jídla jako odměny – u obézních myší se snížila intenzita požitku z chutného jídla. Štíhlé myši, při transplantaci střevní mikrobioty od obézních myší, začaly vykazovat hedonické stravovací chování charakteristické pro obézní myši. Také během zkoušky preferencí chutí se ukázalo, že antibiotická léčba má za následek vyšší konzumaci chutného jídla. Na hedonický příjem potravy a odměnu jídlem má vliv nejenom konkrétní složka, ale i motivace k odměně jídlem a vliv vnějšího prostředí na formování potěšení v podobě konzumace chutného jídla (De Wouters et al. 2021).

### **3.3.6 Vztah střevní mikrobioty a obezity**

Vědecké studie ukazují, že složení střevní mikrobioty může být spojeno s obezitou. Některé studie ukazují, že obezita může být charakterizována relativním nárůstem bakterií kmene Firmicutes a relativním poklesem bakterií kmene Bacteroidetes, ale výsledky nejsou jednoznačné. Byly identifikovány také určité druhy bakterií spojené s obezitou, jako jsou *Clostridium innocuum*, *Eubacterium dolichum*, *Catenibacterium mitsuokai*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus sakei*, *Actinobacteria* a dokonce i *Methanobrevibacter smithii*, který patří mezi archea. Stále se neví, zda změny ve střevní mikrobiotě způsobují obezitu, nebo zda jsou jejím důsledkem. Protože vztah mezi stravou, mikrobiotou, imunitou a obezitou je složitý, je těžké na tuto otázku odpovědět. Změny ve stravě mohou způsobit změny ve složení střevní mikrobioty a způsobit nárůst nebo úbytek hmotnosti, a proto je těžké rozlišit, jakou roli hraje sama mikrobiota v rozvoji obezity. S využitím bezmikrobních myší lze rychle zkoumat vztah mezi mikrobiotou a obezitou, přičemž střevní mikrobiota se přenáší z jiných myší nebo dokonce z člověka. Tento model umožňuje hodnotit změny fenotypů, metabolismu a zánětu u myší po transplantaci střevní mikrobioty. Nicméně tento model má svá omezení, jako jsou změny chutí a preferencí, abnormální imunitní odpovědi a změny v mozku a chování, a i přes počáteční úspěšnou kolonizaci myší střevní mikrobiotou, se její složení rychle mění vlivem stravy hostitele. Přesto tento model představuje vynikající nástroj pro studium role střevní mikrobioty v obezitě (Sanmiguel et al. 2015).

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Dotazníkový průzkum

V první fázi byl proveden dotazníkový průzkum. Dotazník (viz Příloha I) obsahoval dvě části. V první části byly získány základní údaje o respondentech, které umožnily identifikovat, kdo dotazník vyplnil. Respondenti také vyplnili informace o své výšce a hmotnosti, z kterých byl následně vypočítán index tělesné hmotnosti (BMI). Druhá část dotazníku se zaměřila na hodnocení příjemnosti chutí vybraných potravin a pokrmů. Pro každou chuť bylo vybráno 5 zástupců potravin jako reprezentantů určité dominantní chutě. Jednotlivé potraviny byly uvedeny v dotazníku v nahodilém pořadí a respondenti nebyli předem informováni o tom, které potraviny a pokrmy patří do které kategorie chutí. Respondenti hodnotili oblibu každé potraviny na škále od 0 do 5 bodů, kde 0 byla „nehodnoceno/nemohu ohodnotit“, 1 – „nepříjemná, již nepříjemná“, 2 – „ještě přijatelná“, 3 – „uspokojivá“, 4 – „dosti příjemná“ a 5 – „velmi příjemná“. Pro slanou chuť byly vybrány ryby typu slaneček nebo mates, balkánský sýr, preclík posypaný solí, solené arašidy a solené brambůrky. Pro sladkou chuť byly vybrány med, dorty a zákusky, cukroví a sušenky, bonbóny a lízátko, datle. Pro hořkou chuť byly vybrány grapefruit, neslazená káva, pivo, hořká čokoláda s vysokým obsahem kakaa a tonik. Pro kyselou chuť byly vybrány kiwi, sterilované okurky, citron, kysané zelí a kysané mléko. Pro chuť umami byly vybrány instantní polévka, sójová omáčka, čínská polévka, hlíva či houba shiitake a mořská řasa. Pro trpkou chuť byly vybrány trnky, silný černý čaj, brusinky, suché červené víno a nezralé banány. Pro pálivou chuť byly vybrány zázvor, vindaloo (pálivé indické jídlo), česnek, feferonky a chilli papričky. Pro tučnou chuť byly vybrány sádlo, smetana, slanina, máslo a vepřový bůček.

Dotazníkového průzkumu se zúčastnilo 95 studentů Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze ve věku od 19 do 27 let. Muži tvořili 12 % respondentů a ženy 88 %. Výhoda respondentů v tomto věkovém rozmezí byla jejich ještě poměrně vysoká citlivost senzoričtých deskriptorů a již dostatečné zkušenosti s konzumací nejrůznějších druhů potravin a pokrmů.

Následně byli respondenti osloveni s prosbou o poskytnutí vzorku stolice pro potřeby analýzy v rámci této práce. Nejprve byli osloveni respondenti, kteří v rámci předchozího dotazníkového průzkumu projevíli nadprůměrné preference potravin a pokrmů určitých jednotlivých chutí. Proces odběru vzorku stolice byl podrobně popsán v návodu, který byl dobrovolníkům zaslán (viz Příloha II). Tento návod obsahoval informace o tom, jak vzorek stolice odebírat, jak správně skladovat a transportovat. Po obdržení byly vzorky uloženy při teplotě -80 °C, aby byl minimalizován rozklad biologických molekul v nich obsažených.

I přes opakované oslovování respondentů se bohužel podařilo získat vzorky stolice pouze od 5 dárců.

## 4.2 Izolace mikrobiální DNA pomocí izolační sady QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit

Chemikálie:

- QIAamp® PowerFecal® DNA Kit

Laboratorní vybavení:

- Analytické váhy, Mettler AE 200
- Homogenizátor Mini – Beadbeater
- Centrifuga Eppendorf 5418
- Třepačka VORTEX IKA MS 3 Basic
- Laboratorní pipeta Eppendorf Reference 2 nastavitelná 100 - 1000 µl

V našem výzkumu jsme použili komerční soupravu QIAamp® PowerFecal® DNA Kit k izolaci mikrobiální DNA. Postupovali jsme přesně podle manuálu výrobce z května 2019, kde je doporučena hmotnost vzorku stolice 0,25 g. Pro homogenizaci každého vzorku jsme použili zkumavku o objemu 2 ml s granátovými kuličkami. Buněčná lýza byla realizována na přístroji Mini – Beadbeater, kde mechanické srážky kuliček a chemické narušení buněčných membrán umožnily rozbití buněk. Pro odstranění nežádoucích látek, jako jsou polysacharidy, hemové sloučeniny a žlučové soli, jsme použili technologii IRT (Inhibitor Removal Technology®). Celková genomová DNA byla po buněčné lýze zachycena na membráně z oxidu křemičitého a po centrifugaci byla DNA připravena na další analýzy. Výrobce však neuvádí kompletní složení všech roztoků použitých v kitu (QIAGEN 2023).

Postup:

Do zkumavek PowerBead Pro Tube jsme vložili vzorek o hmotnosti zhruba 0,25 g. Poté jsme přidali 800 µl Solution C1 a vzorek homogenizovali vortexováním. Solution C1 je roztok obsahující dodecylsírán sodný. Tento aniontový detergent podporuje lýzu buněk a rozkládá mastné kyseliny a lipidy v buněčné membráně (Štěpánková 2018). Po přidání Solution C1 byly zkumavky přeneseny do homogenizátoru Mini-Beadbeater a třepány 60 sekund při maximálních otáčkách Mechanickým protřepáváním jsme dosáhli úplné homogenizace vzorků a chemických činidel. Poté byly všechny vzorky centrifugovány rychlostí 12000 otáček za minutu po dobu 60 sekund. Supernatant o objemu 600 µl byl přenesen do mikrozkušavek typu Microcentrifuge Tube. K supernatantu bylo přidáno 250 µl Solution C2 a směs jsme následně lehce homogenizovali vortexováním. Tento postup umožnil vysrážení organických a anorganických složek, které neobsahují DNA a mohou snížit její čistotu (Štěpánková 2018). Následně byl celý obsah centrifugován rychlostí 12000 otáček za minutu po dobu 60 sekund, při centrifugaci se tyto vysrážené složky usadily na dno zkumavek. Do druhé série zkumavek jsme přidali 600 µl Solution C3 a vzniklý supernatant (cca 600 µl) jsme nechali bez kontaktu se sedimentem. Poté jsme opět homogenizovali směs vortexováním. Solution C3 také využívá technologii IRT a slouží jako druhé činidlo pro vysrážení anorganických a organických složek, které neobsahují DNA. Odstranění těchto složek je klíčové pro další použití DNA.



Přenesly jsme 650  $\mu$ l supernatantu do kolonek MB Spin Column a následně jsme je centrifugovali při pokojové teplotě a rychlosti 12000 otáček za minutu po dobu 90 sekund. Poté jsme opatrně odstranili tekutinu ze spodní části kolonek a tento postup jsme opakovali znovu.

Opatrně se MB Spin Column vložily do čistých Collection Tube, kam se následně přidalo 500  $\mu$ l EA Solution. Poté se kolonky centrifugovaly rychlostí 12000 otáček za minutu po dobu 60 sekund. Poté jsme opatrně odstranili tekutinu ze spodní části Collection Tube a MB Spin Column se vrátily do nich zpět. Pak bylo do MB Spin Column přidáno 500  $\mu$ l roztoku Solution C5 a centrifugováno rychlostí 12000 otáček za minutu po dobu 60 sekund. Poté jsme opatrně odstranili tekutinu ze spodní části kolonek a MB Spin Column se vložily do čistých Collection Tube. Filtrát byl odstraněn a kolonky MB Spin Column byly opět centrifugovány rychlostí 12000 otáček za minutu po dobu 2 minut, to vedlo k odstranění veškerého roztoku Solution C5. Poté byly kolonky MB Spin Column přeneseny do nových mikrozku mávek typu Collection Tube a na matrix v kolonkách bylo přidáno 60  $\mu$ l roztoku Solution C6. Přidáním roztoku Solution C6 a následnou centrifugací rychlostí 12000 otáček za minutu po dobu 60 sekund došlo k vymytí DNA z kolonek. Izolovaná DNA v mikrozku mávkách byla uchována při  $-20$  °C.

### **4.3 Analýza DNA**

Izolovaná DNA byla převezena a dál zpracována pomocí real-time PCR na Ústavu živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd České republiky, v. v. i.

V každém vzorku byl zjištěn celkový počet bakterií (kolonii tvořící jednotka (KTJ)/ g stolice) a počet bakterií čtyř vybraných kmenů (KTJ/ g stolice) pomocí univerzálních primerů určených pro všechny mikroorganismy a primerů určených pro kmeny Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria a GammaProteobacteria. Názvy a sekvence použitých primerů jsou dostupné v publikaci Bacchetti De Gregoris et al. (2011) a uvedeny na Obrázku 2.

Target group	Name	Sequence
Universal	926F 1062R	AAACTCAAAGGAATTGACGG CTCACRRCACGAGCTGAC
$\alpha$ -Proteobacteria	$\alpha$ 682F 908 $\alpha$ R	CIAGTGTAGAGGTGAAATT CCCCGTCAATTCCTTTGAGTT
$\gamma$ -Proteobacteria	1080 $\gamma$ F $\gamma$ 1202R	TCGTCAGCTCGTGTGTGA CGTAAGGGCCATGATG
Bacteroidetes	798cfbF cfb967R	CRAACAGGATTAGATACCCT GGTAAGGTTCTCGCGTAT
Firmicutes	928F-Firm 1040FirmR	TGAAACTYAAAGGAATTGACG ACCATGCACCACCTGTC
Actinobacteria	Act920F3 Act1200R	TACGGCCGCAAGGCTA TCRTCCCCACCTTCCTCCG

**Obrázek 2: Použité páry primerů specifických pro taxony**

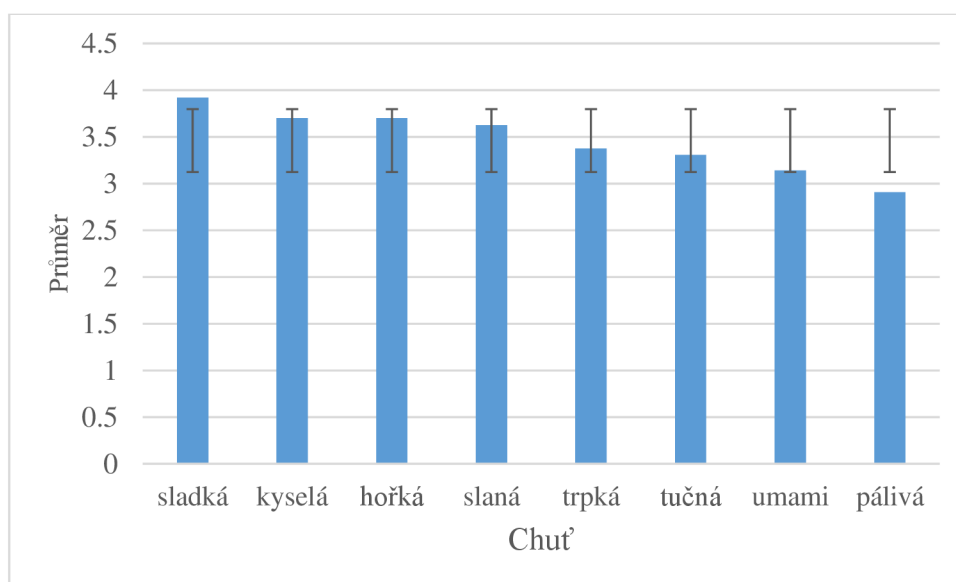
(zdroj obrázku: Bacchetti De Gregoris et al. 2011)

Použitý postup PCR a kvantifikace dle standardů je uveden v publikaci Grilli et al. (2016).

## 5 Výsledky

### 5.1 Dotazníkový průzkum

Byl proveden dotazníkový průzkum mezi 95 respondenty ohledně hodnocení různých typů potravin dle příjemnosti jejich chutí. Podrobné výsledky od všech respondentů jsou uvedeny v tabulce v Příloze III. Z výsledků průzkumu vyplynulo, že nejvyšší průměrné hodnocení příjemnosti získaly potraviny se sladkou chutí, a to konkrétně průměr 3,92. Následovaly potraviny s hořkou a kyselou chutí, které dosáhly průměrného hodnocení příjemnosti 3,70. Zástupci slané chutě získali průměrné hodnocení 3,63, zatímco potraviny s trpkou chutí měly průměr 3,38. Potraviny s vysokým obsahem tuku získaly průměrné hodnocení 3,31, zatímco potraviny s umami chutí dosáhly průměru 3,14. Nejnižší průměr získaly potraviny s pálivou chutí, konkrétně průměr 2,91. Celkově lze tedy říci, že nejvyšší hodnocení příjemnosti získaly potraviny se sladkou chutí, zatímco potraviny s pálivou chutí byly nejméně oblíbené mezi respondenty.



**Obrázek 3: Průměrné hodnocení oblíbenosti chutí respondenty**

Z výsledků průzkumu vyplývá, že potraviny s převažující sladkou chutí byly ohodnoceny nad výše uvedený průměr 57 respondenty, což svědčí o tom, že sladké potraviny byly mezi respondenty nejoblíbenější. Potraviny s tučnou a kyselou chutí byly nadprůměrně hodnoceny 53 hodnotiteli, zatímco potraviny s trpkou chutí byly ohodnoceny nad průměr 50 respondenty. Potraviny s hořkou chutí byly nadprůměrně ohodnoceny 48 respondenty, potraviny s umami chutí 46 respondenty a potraviny s pálivou a slanou chutí 44 respondenty.

Z Tabulky 1 vyplývá, že existují určité korelace mezi různými chutěmi potravin. Konkrétně byla pozorována středně silná pozitivní korelace ( $p > 0,4$ ) mezi kyselou a trpkou chutí, hořkou a trpkou chutí a sladkou a slanou chutí. Dále byla pozorována slabá pozitivní korelace ( $p < 0,4$ ) mezi trpkou a pálivou chutí, kyselou a pálivou, hořkou a pálivou, hořkou a kyselou, slanou a umami, umami a pálivou, tučnou a slanou, tučnou a pálivou. Tyto korelace jsou slabší, ale stále naznačují, že lidé, kteří preferují potraviny s jednou z těchto chutí, budou pravděpodobně mít také rádi potraviny s chutí spojenou s danou korelací.

Tabulka 1 zahrnovala také vztah mezi věkem a preferencemi v chuti potravin. Byla pozorována slabá pozitivní korelace mezi věkem a kyselou, slanou chutí a pálivou chutí.

Z dat také vyplývá, že byla pozorována slabá pozitivní korelace mezi preferencí sladké chutě a BMI (Body Mass Index). Tento vztah může být způsoben tím, že sladké potraviny jsou obvykle bohaté na cukr a kalorie, což může vést k nárůstu hmotnosti u lidí, kteří konzumují příliš mnoho sladkého. Nicméně, i když byla pozorována korelace mezi preferencí sladké chutě a BMI, není to přímý důkaz toho, že konzumace sladkých potravin vede ke zvýšení hmotnosti, protože mohou hrát roli i jiné faktory, jako jsou genetika, životní styl a další stravovací návyky.

Proměnná	Korelace (Vyhodnocení dotazníků)											
	Průměry	Sm.odch.	slaná	sladká	hořká	kyselá	umami	trpká	pálivá	tučná	věk	BMI
slaná	3,62526	0,692278	1,000000	0,402233	-0,007512	-0,036291	0,271857	0,007896	0,127193	0,278816	0,290940	-0,038790
sladká	3,91947	0,718942	0,402233	1,000000	0,023914	0,080961	0,183744	0,047375	-0,177206	0,065702	0,086207	-0,226381
hořká	3,70088	0,727086	-0,007512	0,023914	1,000000	0,283055	0,051245	0,420954	0,311161	0,087226	0,193511	-0,087116
kyselá	3,70158	0,600773	-0,036291	0,080961	0,283055	1,000000	0,083872	0,447044	0,345397	-0,087740	0,339955	0,015327
umami	3,13877	0,748803	0,271857	0,183744	0,051245	0,083872	1,000000	0,140254	0,269119	0,197911	0,103748	-0,155670
trpká	3,37596	0,605260	0,007896	0,047375	0,420954	0,447044	0,140254	1,000000	0,393497	0,022034	0,201173	-0,079622
pálivá	2,90772	0,992995	0,127193	-0,177206	0,311161	0,345397	0,269119	0,393497	1,000000	0,250050	0,258451	0,070176
tučná	3,30702	0,713644	0,278816	0,065702	0,087226	-0,087740	0,197911	0,022034	0,250050	1,000000	0,034348	0,098008
věk	22,69474	1,744741	0,290940	0,086207	0,193511	0,339955	0,103748	0,201173	0,258451	0,034348	1,000000	-0,057076
BMI	22,36147	3,010285	-0,038790	-0,226381	-0,087116	0,015327	-0,155670	-0,079622	0,070176	0,098008	-0,057076	1,000000

**Tabulka 1:** Korelace mezi preferencemi chutí, věkem a BMI respondentů

## 5.2 Rozboř mikrobioty stolice dárců

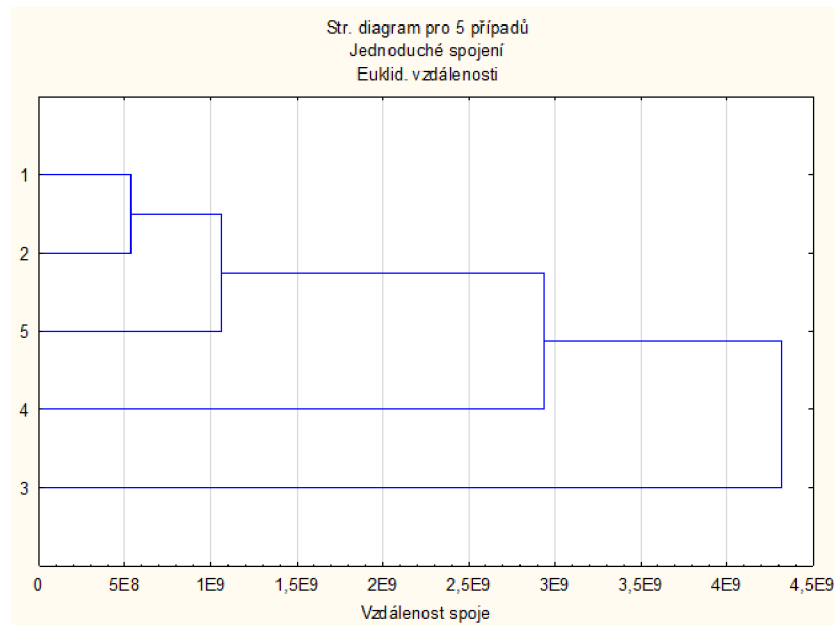
V Tabulce 2 jsou uvedeny výsledky rozboru mikrobioty stolice dárců prostřednictvím real-time PCR. Všechny vzorky byly analyzovány pro celkové mikroorganismy a dále byly sledované vybrané čtyři skupiny bakterií. Z výsledků je patrné, že mezi vzorky existovaly rozdíly.

Vzorek	Celkové mikroorganismy (KTJ/g stolice)	Firmicutes (KTJ/g stolice)	Bacteroidetes (KTJ/g stolice)	Actinobacteria (KTJ/g stolice)	GammaProteobacteria (KTJ/g stolice)
1	6,45E+09	5,28E+08	3,93E+07	1,18E+09	1,68E+07
2	6,98E+09	5,16E+08	2,37E+07	1,10E+09	2,85E+06
3	2,20E+09	1,70E+08	4,73E+06	5,09E+08	3,77E+07
4	5,65E+09	7,09E+08	7,11E+07	4,00E+09	1,01E+07
5	7,99E+09	7,14E+08	5,20E+07	1,37E+09	1,20E+07

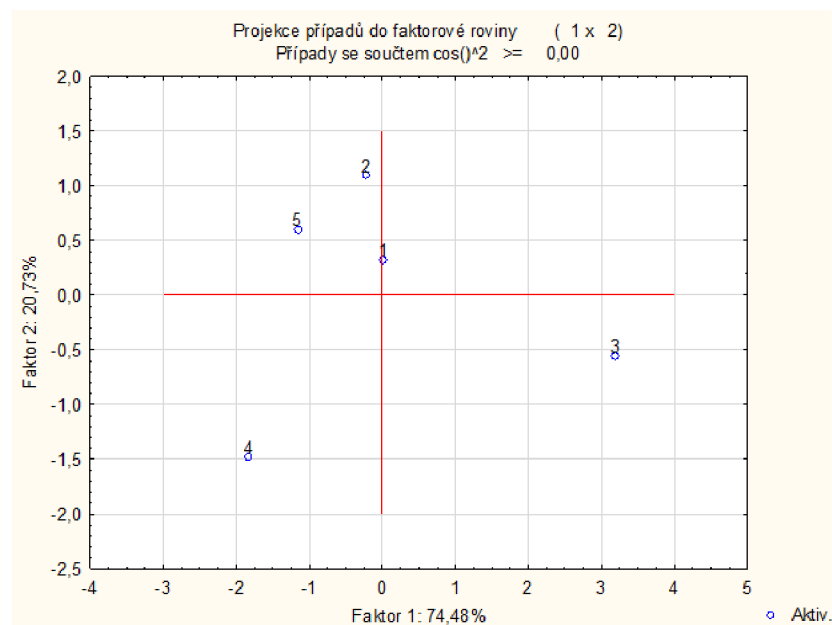
**Tabulka 2:** Výsledky rozboru mikrobioty stolice dárců prostřednictvím real-time PCR

Z dat prezentovaných v Tabulce 2 lze vyčíst, že vzorek od dárce 5 měl nejvyšší celkový počet mikroorganismů (KTJ/g), zatímco vzorek stolice od dárce 3 měl nejnižší počet mikroorganismů. Lze konstatovat, že dárce 3 vykazoval nejnižší podíl bakterií kmene Firmicutes. Vzorky 1 a 2 měly podobné zastoupení této bakteriální skupiny a to samé platilo pro vzorky 5 a 6. Dále lze usoudit, že vzorek od dárce 3 vykazoval nejnižší podíl bakterií kmene Bacteroidetes, zatímco u vzorku od dárce 4 byl tento podíl nejvyšší ze všech zkoumaných dárců. Dárce 4 se odlišoval od ostatních dárců tím, že vykazoval výrazně vyšší podíl bakterií kmene Actinobacteria. Dárce 3 se od ostatních dárců odlišoval tím, že vykazoval výrazně vyšší podíl bakterií druhu GammaProteobacteria.

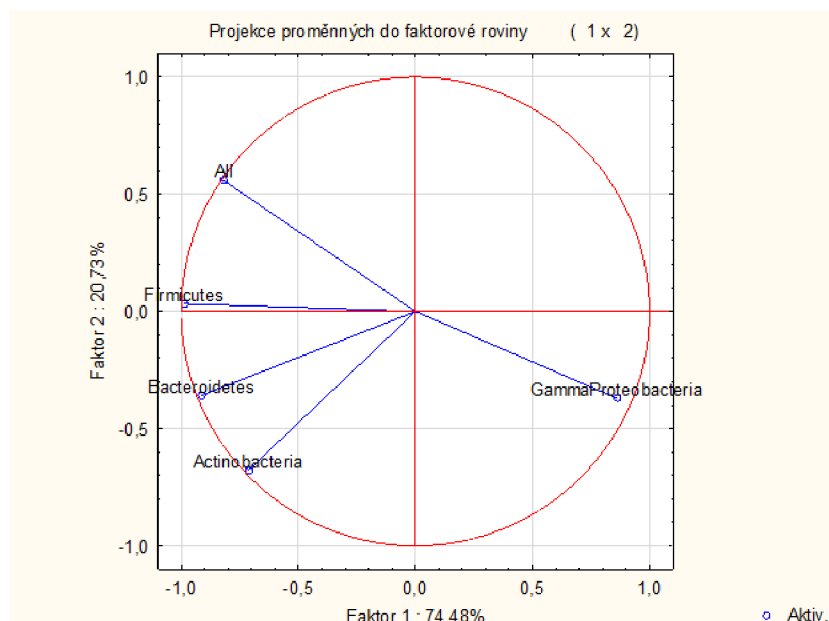
Při zohlednění všech naměřených hodnot dohromady a vyhodnocení dat pomocí hierarchického shlukování (Obrázek 4) je vidět, se nejvíce odlišoval vzorek 3 a následně vzorek 4. Vzorky 1 a 2 si byly nejvíce podobné. Toto je vidět i na výsledků PCA analýzy (Obrázky 5a a 5b).



**Obrázek 4:** Výsledky hierarchického shlukování vzorků stolice dle vyšetření mikrobioty



**Obrázek 5a:** Výsledky PCA analýzy vzorků stolice dle vyšetření mikrobioty – projekce případů



**Obrázek 5b:** Výsledky PCA analýzy vzorků stolice dle vyšetření mikrobioty – projekce proměnných

Z výsledků vidíme, že vzorek 3 se odlišoval zejména z důvodu vysokého počtu GammaProteobacteria, vzorek 4 byl odlišný vyšším zastoupením Actinobacteria, a vzorek 5 determinoval hlavně celkový počet mikrobů. Žádný ze vzorků se nelišil od ostatních, tím že by hlavním faktorem bylo zastoupení Firmicutes či Bacteroidetes.

Tabulka 3 uvádí, jaké byly preference potravin u jedinců, kteří byli ochotni darovat vzorek stolice. Jejich charakteristika je uvedena v Tabulce 4. Všechny dárkyně byly ženy.

dárce	slaná	sladká	hořká	kyselá	umami	trpká	pálivá	tučná
1	3,6	3,4	3,8	4,8	3,4	3,6	3,4	3,00
2	2,2	2,4	4,2	3,2	2	3,2	2,6	1,8
3	3,8	4,2	4	4,6	3,4	4	4	4
4	3,4	3,6	5	4,2	3,2	3,4	2,4	4
5	3,8	3,6	4,6	4,4	3	4,75	4,6	3,4

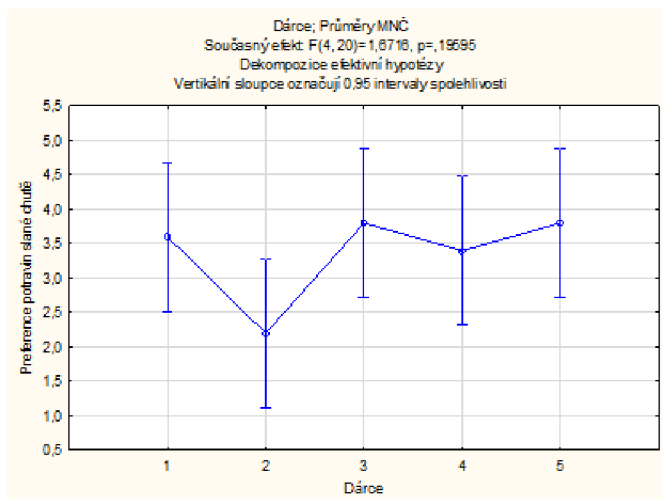
**Tabulka 3:** Preference potravin u dárců stolice

dárce	pohlaví	věk	výška	váha	BMI
1	žena	26	1,74	65	21,5
2	žena	20	1,70	65	22,5
3	žena	22	1,70	61	21,1
4	žena	24	1,70	85	29,4
5	žena	25	1,59	60	23,7

**Tabulka 4:** Pohlaví, věk, výška, hmotnost a BMI dárců stolice

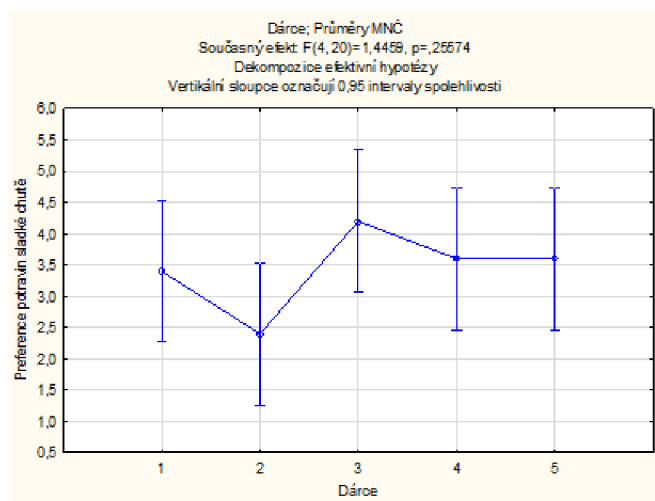
Podíváme-li se na to, jaké potraviny dárce vzorků stolice preferovali, vidíme, že jsou zde některé rozdíly.

Z Obrázku 6 vyplývá, že mezi dárce nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl v preferenci potravin slané chutě. Nicméně je patrné, že 2 měl nejmenší zájem o potraviny se slanou chutí.



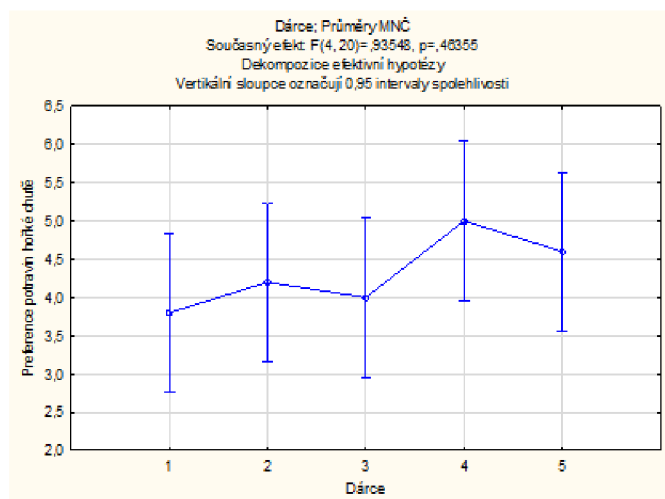
**Obrázek 6:** Výsledky analýzy ANOVA preference slané chutě dárce

Z výsledků na Obrázku 7 vyplývá, že mezi dárce nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl v preferenci potravin sladké chutě. Nicméně je patrné, že dárce 2 nejméně preferoval sladkou chuť.



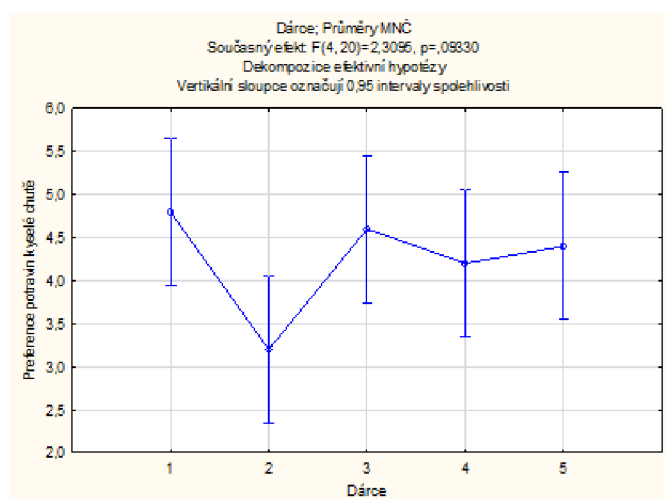
**Obrázek 7:** Výsledky analýzy ANOVA preference sladké chutě dárce

Z výsledků na Obrázku 8 vyplývá, že mezi dárce nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v preferenci potravin hořké chutě. Nicméně je zřejmé, že dárce 4 měl nejvyšší přednost vůči hořké chuti ze všech respondentů.



**Obrázek 8:** Výsledky analýzy ANOVA preference hořké chutě dárce

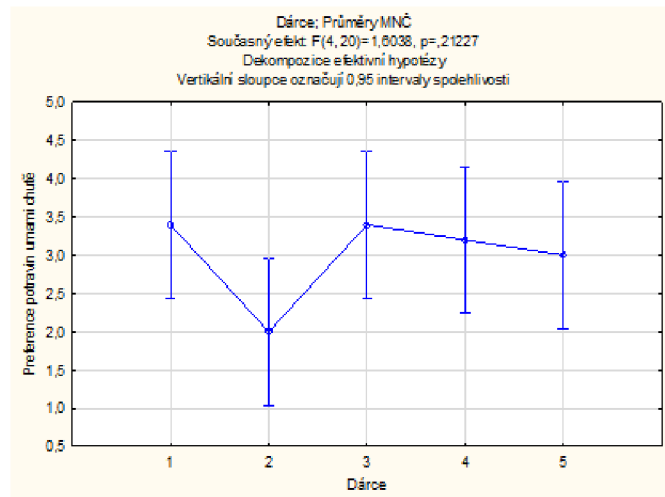
Výsledky na Obrázku 9 naznačují, že mezi dárce nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v preferenci potravin s kyselou chutí. Avšak je zřejmé, že dárce číslo 2 projevil nejméně zájem o potraviny s kyselou chutí ze všech respondentů.



**Obrázek 9:** Výsledky analýzy ANOVA preference kyselé chutě dárce

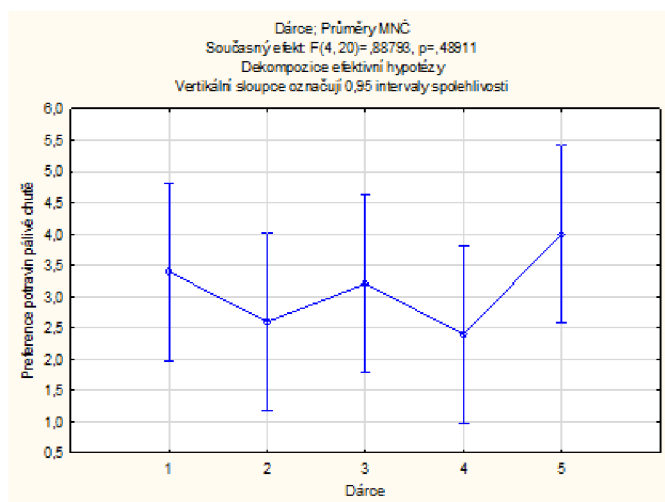
Z výsledků na Obrázku 10 vyplývá, že mezi dárce nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly v preferenci potravin s umami chutí. Nicméně je zřejmé, že dárce 2 projevil nejméně zájem o potraviny s umami chutí ze všech respondentů.





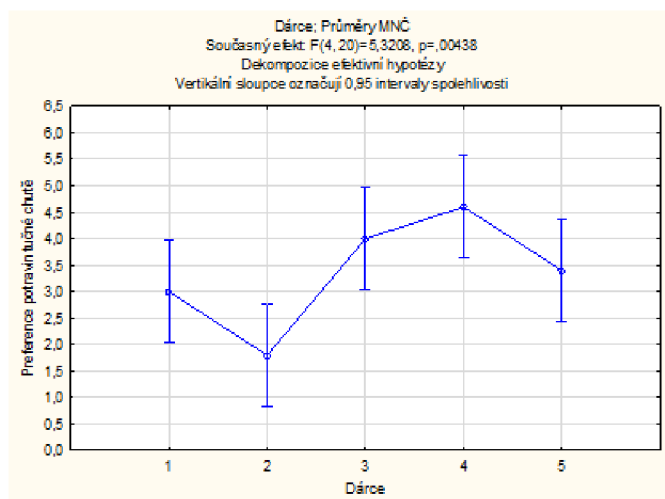
**Obrázek 10:** Výsledky analýzy ANOVA preference umami chutě dárce

Z výsledků na Obrázku 11 vyplývá, že mezi dárce nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v preferenci potravin s pálivou chutí. Nicméně je zřejmé, že dárce číslo 1 a 5 měli nejvyšší zájem o potraviny s pálivou chutí ze všech respondentů.



**Obrázek 11:** Výsledky analýzy ANOVA preference pálivé chutě dárce

Výsledky na Obrázku 12 a v Tabulce 5 naznačují, že dárce 4 statisticky významně preferoval tučnou chuť v porovnání s dárce 2. Takže rozdíly byly jen mezi těmito dvěma dárce. Žádné jiné rozdíly nebyly zjištěny.

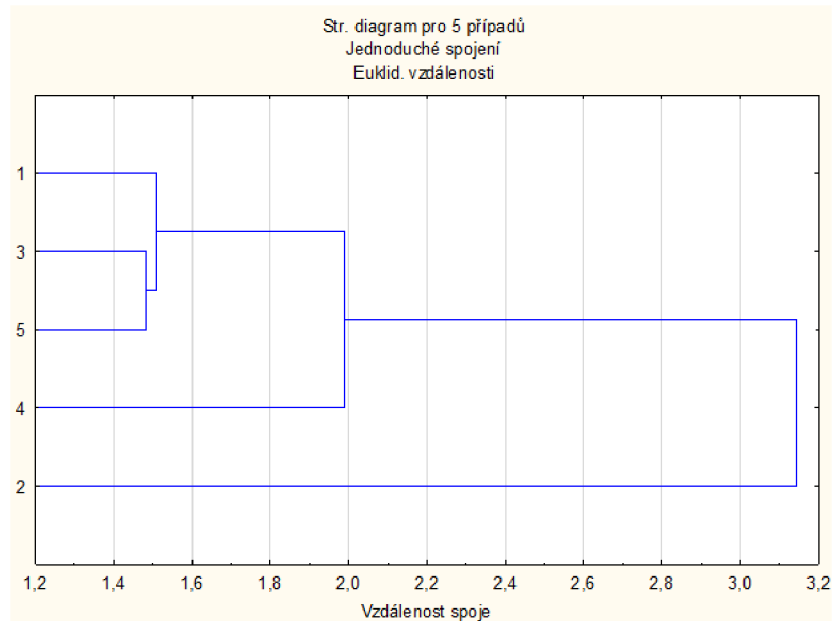


**Obrázek 12:** Výsledky analýzy ANOVA preference tučné chutě dárce

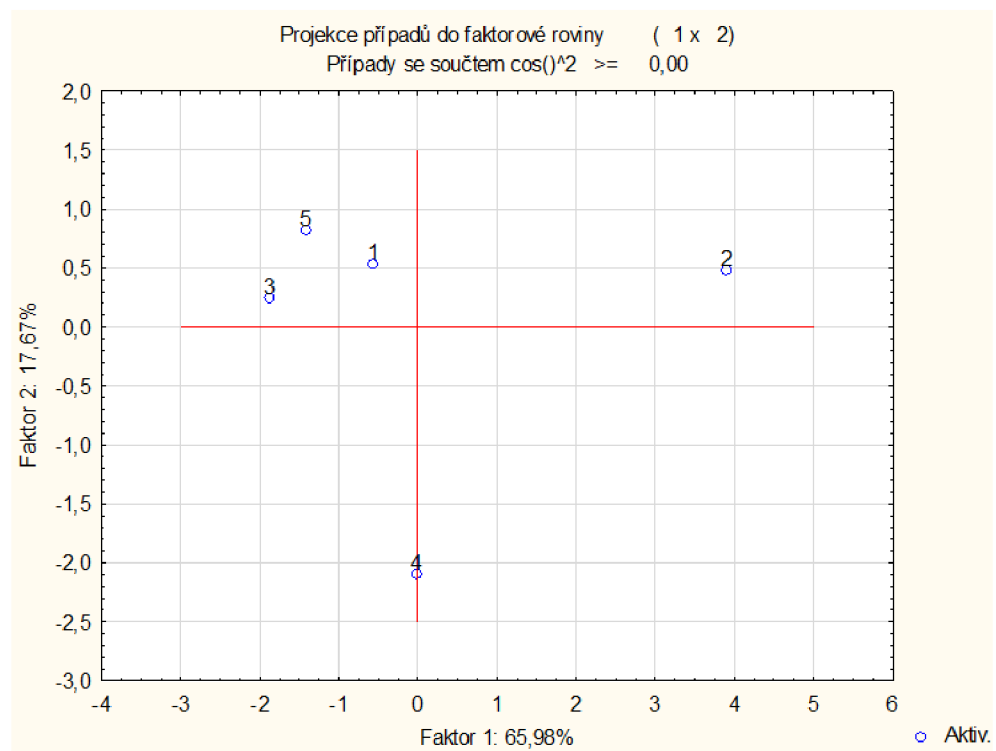
Scheffeho test; proměnná Preference potravin tučné chutě (Vyhodnocení dotazníků) Pravděpodobnosti pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 1,0600, sv = 20,000						
Č. buňky	Dárce	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
		3,0000	1,8000	4,0000	4,6000	3,4000
1	1		0,510850	0,673994	0,237276	0,983122
2	2	0,510850		0,050680	<b>0,008327</b>	0,237276
3	3	0,673994	0,050680		0,928547	0,928547
4	4	0,237276	<b>0,008327</b>	0,928547		0,510850
5	5	0,983122	0,237276	0,928547	0,510850	

**Tabulka 5:** Výsledky Scheffeho testu rozdílů preference tučné chutě dá

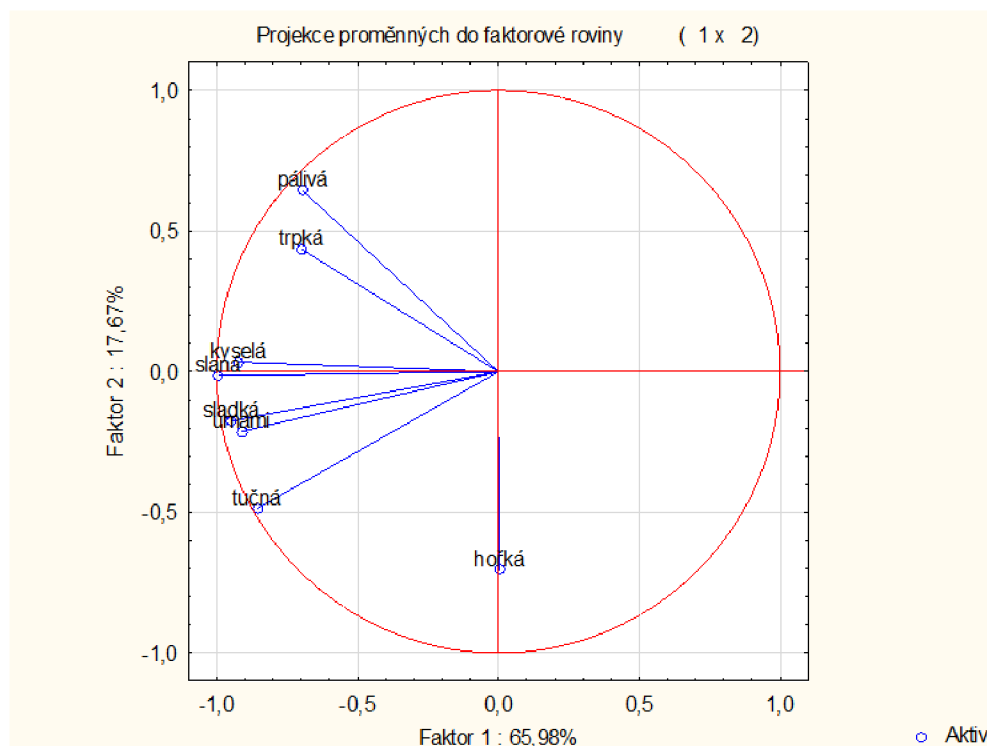
Při zohlednění preferencí všech potravin reprezentujících různé chutě a vyhodnocení dat pomocí hierarchického shlukování (Obrázek 13) je vidět, se nejvíce odlišovaly odpovědi respondenta 2 a následně respondenta 4. Odpovědi od osob 3 a 5 si byly nejvíce podobné. Toto je vidět i na výsledků PCA analýzy (Obrázky 14a a 14b).



**Obrázek 13:** Výsledky hierarchického shlukování dle dotazníkového šetření preference potravin reprezentujících určitou chuť



**Obrázek 14a:** Výsledky PCA analýzy dle dotazníkového šetření preference potravin reprezentujících určitou chuť – projekce případů



**Obrázek 14b:** Výsledky PCA analýzy dle dotazníkového šetření preference potravin reprezentujících určitou chuť – projekce proměnných.

Respondent 4 se odlišoval zejména z důvodu preference hořkých potravin, respondent 2 naopak nejméně preferoval sladké potraviny. Osoby 1 a 5 se odlišovaly preferencí pálivé, osoba 3 nejvíce inklinovala ke kyselým potravinám. Respondent 4 měl na rozdíl od ostatních vyšší tělesnou hmotnost a BMI. Neprojevila se u něho ale významná preference pro energeticky bohatší sladké a tučné potraviny. Výjimkou byla pouze odlišnost v preferenci tučných potravin v porovnání s respondentem číslo 2.

Pro zjištění závislostí mezi vyšetřením stolice a preferencí potravin určité chuti byly mezi zjištěnými hodnotami vypočteny korelace. Statisticky významně korelovaly hodnoty preference pro hořké potraviny a BMI ( $r = 0,925$ ), tělesná hmotnost a vyšší zastoupení Actinobacteria ( $r = 0,956$ ), BMI a vyšší zastoupení Actinobacteria ( $r = 0,981$ ) a Firmicutes a Bacteroidetes ( $r = 0,916$ ). Ve sledovaném vzorku se nepodařilo najít žádnou statisticky významnou korelaci mezi preferencí potravin určité chuti a vyšším zastoupením určité skupiny mikrobů ve stolici jedince.

Dárce 3, který měl vyšší zastoupení GammaProteobacteria se vyznačoval preferencí kyselých potravin, dárce 4, který měl vyšší zastoupení Actinobacteria preferoval hořké potraviny. Dárci 1, 2 a 5, kteří měli podobný střevní mikrobiom preferovali pálivé potraviny (1 a 5) a netučné potraviny (osoba 2).

## 6 Diskuze

Hodnotitelé měli za úkol dát preference pro některé z vybraných potravin, ale nebyli informováni o tom, že jsou tyto potraviny asociovány s nějakou typickou chutí. Možností pro zlepšení naší studie by bylo ptát se přímo na preferenci jednotlivých chutí namísto obecné preference potravin. To by mohlo vést k lepšímu porozumění souvislosti mezi složením střevní mikrobioty a preferencí jednotlivých chutí.

Nejvyšší hodnocení příjemnosti získaly potraviny se sladkou chutí, zatímco potraviny s pálivou chutí byly nejméně oblíbené mezi respondenty.

Sladká chuť je jednou z nejoblíbenějších a nejpříjemnějších chuťových vlastností. Je obvykle spojována s potravinami, které obsahují vysoké množství sacharidů, jako jsou cukry, ovoce nebo sladké dezerty. Tuto chuťovou vlastnost máme zakódovanou v genech *tas1R2* a *tas1R3*, které jsou zodpovědné za vnímání sladkosti v ústech (Gravina et al. 2013).

Různé druhy bakterií v naší střevní mikrobiotě mají specifické požadavky na složení stravy. Například zástupci kmenu Bacteroidetes vyžadují tuky v substrátu pro svůj růst a metabolismus (Alcock et al. 2014). Naše výsledky ukazují že, dárce 4, vzorek stolice kterého vykazoval nejvyšší podíl bakterií kmene Bacteroidetes, skutečně projevily významně vyšší zájem o potraviny s tučnou chutí ve srovnání s ostatními respondenty.

V raném dospívání mohou být mladí lidé citlivější na hořké chutě a mohou mít větší averzi vůči nim. Nicméně s postupem věku a zralosti mohou tyto jedinci vyvinout větší chuťovou toleranci a sníženou averzi k hořkým chutím. Tento vývoj může být ovlivněn mnoha faktory, včetně expozice a opakované konzumace hořkých potravin a nápojů (Valdes et al. 2018). V rámci námi provedeného dotazníkového šetření byla pozorována slabá pozitivní korelace mezi věkem a kyselou, slanou chutí a pálivou chutí.

V našem výzkumu byla zjištěna korelace mezi hořkou chutí a složením mikrobioty (z důvodu vyššího zastoupení Actinobacteria). Dostupné literární zdroje zatím nepopisují spojitost mikrobioty s hořkými potravinami. Bylo by zajímavé se tím v budoucnu zabývat.

Žádná statisticky významná korelace mezi preferencemi potravin určité chuti a vyšším zastoupením určité skupiny mikrobů ve stolici jedince nebyla nalezena. Je nutné poznamenat, že jsme získali pouze omezený počet vzorků stolice, což následně limitovalo rozsah a spolehlivost našich výsledků. Bylo by tedy vhodné v budoucnu provést podobnou studii na větším vzorku populace, aby bylo možné získat více významných výsledků.

Vzhledem k tomu, že literární zdroje zabývající se složením mikrobioty stolice a chuťovými preferencemi jsou zatím velmi limitované, byla tato pilotní studie zaměřena na vypracování metodiky výzkumu sledování vztahu těchto dvou parametrů. Dotazník oblíbenosti preference potravin reprezentujících určitou chuť ukázal, že mezi respondenty byly rozdíly, ale u některých potravin je možné, že by mohla být asociována s více chutěmi, či různými dominantními chutěmi u různých osob. Proto by bylo vhodné do budoucna doplnit výzkum i sensorickým hedonickým hodnocením modelových roztoků základních chutí reprezentovaných jen jednou rozpuštěnou sloučeninou.

Také by bylo potřeba získat větší počet vzorků stolice, na základě kterých by bylo možné lépe vyhodnotit vztahy mezi mikrobiotou a chuťovými preferencemi. Takovýto výzkum by pak mohl zjistit do jaké míry může složení střevní mikrobioty ovlivňovat naše stravovací chování a výběr potravin.

## 7 Závěr

Tato práce se zaměřila na zkoumání vztahu mezi složením lidské střevní mikrobioty a preferencí jedinců k určitým chutím. V první části výzkumu byl proveden dotazníkový průzkum, výsledky kterého odhalily, že mezi respondenty existovaly rozdíly v preferenci potravin, které jsme identifikovali jako potenciálně sladké, slané, kyselé, hořké, umami, trpké, pálivé a tučné. Výsledky průzkumu také ukázaly, že existují pozitivní korelace mezi některými chutěmi potravin a věkem respondentů.

V druhé části výzkumu byla provedena analýza složení mikrobioty dárců. Byla zkoumána korelace mezi složením mikrobioty a preferencí chutí, přičemž byla zjištěna pouze korelace mezi hořkou chutí a složením mikrobioty. Hypotéza, že preference určité chuti souvisí se složením střevní mikrobioty, byla nakonec zamítnuta kvůli malému počtu analyzovaných vzorků a tomu, že hodnotitelé hodnotili potraviny jako reprezentanty jednotlivých chutí, nikoliv přímo modelové vzorky.

Celkově lze tedy říci, že tato práce poskytuje určitý pohled na vztah mezi složením střevní mikrobioty a preferencí chutí, ale vzhledem k omezenostem výzkumu jsou potřeba další studie, aby se tato problematika lépe pochopila.

## 8 Literatura

ALCOCK, Joe, Carlo C. MALEY a C. Athena AKTIPIS. Is eating behavior manipulated by the gastrointestinal microbiota? Evolutionary pressures and potential mechanisms. *BioEssays* [online]. 2014, **36**(10), 940-949 [cit. 2023-04-10]. ISSN 0265-9247. Dostupné z: doi:10.1002/bies.201400071

ALLEN, Andrew P., Timothy G. DINAN, Gerard CLARKE a John F. CRYAN. A psychology of the human brain-gut-microbiome axis. *Social and Personality Psychology Compass* [online]. 2017, **11**(4) [cit. 2023-04-10]. ISSN 17519004. Dostupné z: doi:10.1111/spc3.12309

BACCHETTI DE GREGORIS, Tristano, Nick ALDRED, Anthony S. CLARE a J. Grant BURGESS. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. *Journal of Microbiological Methods* [online]. 2011, **86**(3), 351-356 [cit. 2023-04-10]. ISSN 01677012. Dostupné z: doi:10.1016/j.mimet.2011.06.010

BUCHANAN, Kelly L. a Diego V. BOHÓRQUEZ. You Are What You (First) Eat. *Frontiers in Human Neuroscience* [online]. 2018, **12** [cit. 2023-04-10]. ISSN 1662-5161. Dostupné z: doi:10.3389/fnhum.2018.00323

CANI, Patrice D. Human gut microbiome: hopes, threats and promises. *Gut* [online]. 2018, **67**(9), 1716-1725 [cit. 2023-04-21]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gutjnl-2018-316723

COOPER, Sarah, Rachel MATHEWS, Laretta BUSHAR, Brie PADDOCK, Jennifer WOOD a Randy TAMMARA. The Human Microbiome: Composition and Change Reflecting Health and Disease. *HAPS Educator* [online]. 2019, **23**(2), 432-445 [cit. 2023-04-21]. ISSN 24733806. Dostupné z: doi:10.21692/haps.2019.020

DAVENPORT, Emily R., Orna MIZRAHI-MAN, Katelyn MICHELINI, Luis B. BARREIRO, Carole OBER, Yoav GILAD a Lluís QUINTANA-MURCI. Seasonal Variation in Human Gut Microbiome Composition. *PLoS ONE* [online]. 2014, **9**(3) [cit. 2023-04-21]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0090731

DE WOUTERS D'OPLINTER, Alice, Marialetizia RASTELLI, Matthias VAN HUL, Nathalie M. DELZENNE, Patrice D. CANI a Amandine EVERARD. Gut microbes participate in food preference alterations during obesity. *Gut Microbes* [online]. 2021, **13**(1) [cit. 2023-04-10]. ISSN 1949-0976. Dostupné z: doi:10.1080/19490976.2021.1959242

DORÉ, Joël a Hervé BLOTTIÈRE. The influence of diet on the gut microbiota and its consequences for health. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. 2015, **32**, 195-199 [cit. 2023-04-10]. ISSN 09581669. Dostupné z: doi:10.1016/j.copbio.2015.01.002

GONZÁLEZ-ARANCIBIA, Camila, Jocelyn URRUTIA-PIÑONES, Javiera ILLANES-GONZÁLEZ, Jonathan MARTINEZ-PINTO, Ramón SOTOMAYOR-ZÁRATE, Marcela JULIO-PIEPER a Javier A. BRAVO. Do your gut microbes affect your brain dopamine?. *Psychopharmacology* [online]. 2019, **236**(5), 1611-1622 [cit. 2023-04-10]. ISSN 0033-3158. Dostupné z: doi:10.1007/s00213-019-05265-5



- GRAVINA, Stephen A., Gregory L. YEP a Mehmood KHAN. Human Biology of Taste. *Annals of Saudi Medicine* [online]. 2013, **33**(3), 217-222 [cit. 2023-04-10]. ISSN 0256-4947. Dostupné z: doi:10.5144/0256-4947.2013.217
- GRILLI, Diego Javier, Kateřina FLIEGEROVÁ, Jan KOPEČNÝ, et al. Analysis of the rumen bacterial diversity of goats during shift from forage to concentrate diet. *Anaerobe* [online]. 2016, **42**, 17-26 [cit. 2023-04-10]. ISSN 10759964. Dostupné z: doi:10.1016/j.anaerobe.2016.07.002
- HAN, Hui, Bao YI, Ruqing ZHONG, et al. From gut microbiota to host appetite: gut microbiota-derived metabolites as key regulators. *Microbiome* [online]. 2021, **9**(1) [cit. 2023-04-10]. ISSN 2049-2618. Dostupné z: doi:10.1186/s40168-021-01093-y
- KING, Charles H., Hiral DESAI, Allison C. SYLVETSKY, et al. Baseline human gut microbiota profile in healthy people and standard reporting template. *PLOS ONE* [online]. 2019, **14**(9) [cit. 2023-04-09]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0206484
- KUSSMANN, Martin a Peter J. VAN BLADEREN. The Extended Nutrigenomics – Understanding the Interplay between the Genomes of Food, Gut Microbes, and Human Host. *Frontiers in Genetics* [online]. 2011, **2** [cit. 2023-04-10]. ISSN 1664-8021. Dostupné z: doi:10.3389/fgene.2011.00021
- LEUNG, Ryan a Mihai COVASA. Do Gut Microbes Taste?. *Nutrients* [online]. 2021, **13**(8) [cit. 2023-04-09]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu13082581
- MA, Qianquan, Changsheng XING, Wenyong LONG, Helen Y. WANG, Qing LIU a Rong-Fu WANG. Impact of microbiota on central nervous system and neurological diseases: the gut-brain axis. *Journal of Neuroinflammation* [online]. 2019, **16**(1) [cit. 2023-04-10]. ISSN 1742-2094. Dostupné z: doi:10.1186/s12974-019-1434-3
- NORRIS, V., F. MOLINA a A. T. GEWIRTZ. Hypothesis: Bacteria Control Host Appetites. *Journal of Bacteriology* [online]. 2013, **195**(3), 411-416 [cit. 2023-04-10]. ISSN 0021-9193. Dostupné z: doi:10.1128/JB.01384-12
- QIAGEN 2013–23. QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit Handbook. Available from <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=8896817a-253f-4952-b845-0aab796813ce&lang=en> (accessed March 15, 2023).
- REZZI, Serge, Ziad RAMADAN, François-Pierre J. MARTIN, Laurent B. FAY, Peter VAN BLADEREN, John C. LINDON, Jeremy K. NICHOLSON a Sunil KOCHHAR. Human Metabolic Phenotypes Link Directly to Specific Dietary Preferences in Healthy Individuals. *Journal of Proteome Research* [online]. 2007, **6**(11), 4469-4477 [cit. 2023-04-21]. ISSN 1535-3893. Dostupné z: doi:10.1021/pr070431h
- ROBLES ALONSO, Virginia a Francisco GUARNER. Linking the gut microbiota to human health. *British Journal of Nutrition* [online]. 2013, **109**(S2), S21-S26 [cit. 2023-04-10]. ISSN 0007-1145. Dostupné z: doi:10.1017/S0007114512005235

- SAARELA, M, L LÄHTEENMÄKI, R CRITTENDEN, S SALMINEN a T MATTILA-SANDHOLM. Gut bacteria and health foods—the European perspective. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2002, **78**(1-2), 99-117 [cit. 2023-04-10]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(02)00235-0
- SANKAR, Senthil Alias, Jean-Christophe LAGIER, Pierre PONTAROTTI, Didier RAOULT a Pierre-Edouard FOURNIER. The human gut microbiome, a taxonomic conundrum. *Systematic and Applied Microbiology* [online]. 2015, **38**(4), 276-286 [cit. 2023-04-09]. ISSN 07232020. Dostupné z: doi:10.1016/j.syapm.2015.03.004
- SANMIGUEL, Claudia, Arpana GUPTA a Emeran A. MAYER. Gut Microbiome and Obesity: A Plausible Explanation for Obesity. *Current Obesity Reports* [online]. 2015, **4**(2), 250-261 [cit. 2023-04-10]. ISSN 2162-4968. Dostupné z: doi:10.1007/s13679-015-0152-0
- SCLAFANI, Anthony a Karen ACKROFF. Role of gut nutrient sensing in stimulating appetite and conditioning food preferences. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* [online]. 2012, **302**(10), R1119-R1133 [cit. 2023-04-10]. ISSN 0363-6119. Dostupné z: doi:10.1152/ajpregu.00038.2012
- SENDER, Ron, Shai FUCHS a Ron MILO. Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell* [online]. 2016, **164**(3), 337-340 [cit. 2023-04-21]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2016.01.013
- SUBRAMANIAN, Balanehru, Sundar Krishnan BALAKRISHNAN, Krishna G. SESHADRI a Frederick A. VALERIOTE. Insights into The Human Gut Microbiome - A Review. *SBV Journal of Basic, Clinical and Applied Health Science* [online]. 2018, **1**(A4), 103-110 [cit. 2023-04-21]. ISSN 2582-5593. Dostupné z: doi:10.5005/jp-journals-10082-01133
- ŠTĚPÁNKOVÁ A. 2018. Estimation of gut microbiome in mice obesity model by tools of molecular genetics [MSc. Thesis]. České vysoké učení technické v Praze.
- TURNER, Alexandria, Martin VEYSEY, Simon KEELY, Christopher SCARLETT, Mark LUCOCK a Emma BECKETT. Interactions between Bitter Taste, Diet and Dysbiosis: Consequences for Appetite and Obesity. *Nutrients* [online]. 2018, **10**(10) [cit. 2023-04-10]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu10101336
- UELAND, Øydis, Themistoklis ALTINTZOGLOU, Bente KIRKHUS, Diana LINDBERG, Guro Helgesdotter ROGNSÅ, Jan Thomas ROSNES, Ida RUD a Paula VARELA. Perspectives on personalised food. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2020, **102**, 169-177 [cit. 2023-04-10]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2020.05.021
- VALDES, Ana M, Jens WALTER, Eran SEGAL a Tim D SPECTOR. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ* [online]. [cit. 2023-04-21]. ISSN 0959-8138. Dostupné z: doi:10.1136/bmj.k2179
- VALENTE, Ana. The Possible Influence of Microbiota on Food Compulsion. *Open Access Journal of Biomedical Science* [online]. 2020, **2**(2) [cit. 2023-04-10]. ISSN 2690487X. Dostupné z: doi:10.38125/OAJBS.000179

VAN DE WOUW, Marcel, Harriët SCHELLEKENS, Timothy G DINAN a John F CRYAN. Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *The Journal of Nutrition* [online]. 2017, **147**(5), 727-745 [cit. 2023-04-10]. ISSN 0022-3166. Dostupné z: doi:10.3945/jn.116.240481

WANG, Hong-Xing a Yu-Ping WANG. Gut Microbiota-brain Axis. *Chinese Medical Journal* [online]. 2016, **129**(19), 2373-2380 [cit. 2023-04-09]. ISSN 0366-6999. Dostupné z: doi:10.4103/0366-6999.190667

## **9 Seznam použitých zkratk a symbolů**

BED – binge eating disorder

BMI – index tělesné hmotnosti

CNS – centrální nervová soustava

ENS – enterický nervový systém

GABA - kyselina gama-aminomáselná

GF – bezmikrobní

IBS – syndrom dráždivého tračníku

NES – night eating syndrome

SCFA – mastné kyseliny s krátkým řetězcem

T1R – chuťové receptory typu 1

T2R – chuťové receptory typu 2

## 10 Samostatné přílohy

### Příloha I: dotazník

#### Dotazníkový průzkum

Dobrý den, obracím se na Vás s žádostí o vyplnění dotazníku. Daný dotazníkový průzkum provádím v rámci vypracování svojí diplomové práce, tématem které je "Vztah mezi chuťovými preferencemi a střevní mikrobiotou". Dotazník má tři části. V první části Vás žádám vyplnit údaje, na základě kterých bude možné identifikovat Vaše odpovědi. V druhé části Vás žádám ohodnotit příjemnost chutí jednotlivých potravin. Předem Vám děkuji za spolupráci.

**Jméno a příjmení:** \_\_\_\_\_ **Věk:** \_\_\_\_\_

**Výška (cm):** \_\_\_\_\_ **Váha (kg):** \_\_\_\_\_

Ohodnotte prosím příjemnost nabízených potravin a pokrmů. Pokud jste nikdy neochutnal/a konkrétní potravinu nebo pokrm, zvolte si možnost "nemůžu ohodnotit".

nemůžu ohodnotit      nepříjemná, již nepříjemná      ještě přijatelná      uspokojivá      dosti příjemná      velmi příjemná



1. kysané mléko



2. vepřový bůček



3. mořská řasa



4. suché červené víno



5. sójová omáčka



6. citron



7. čínská polévka



8. instantní polévka



9. cukroví a sušenky



10. nezralé banány



11. bonbóny a lízátko



12. solené arašidy



13. máslo



14. solené brambůrky



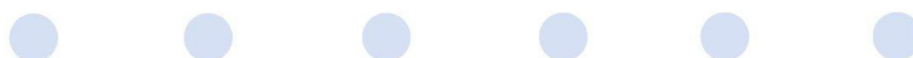
15. feferonky



16. zázvor



17. neslazená káva



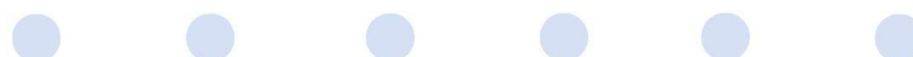
18. datle



19. med



20. tonik



21. preclík posypaný solí



22. dorty a zákusky



23. vinaloo



24. hlíva či houba shiitake



25. kysané zelí



26. sádlo



27. kiwi



28. pivo



29. brusinky



30. sterilované okurky



31. chilli papričky



32. trnky



33. česnek



34. silný černý čaj



35. ryby typu slaneček nebo mates



36. grapefruit



37. slanina



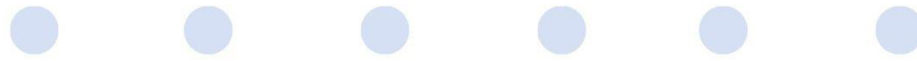
38. balkánský sýr



39. hořká čokoláda s vysokým obsahem kaka



40. smetana





## **Příloha II: návod**

### Odběr vzorků stolice

Do zkumavky odeberte cca 0,5 g stolice (velikost lískového oříšku), která nesmí přijít do kontaktu s vodou. Odebírejte přímo od rekta nebo vyplňte mísu toaletním papírem tak, aby se vzorek stolice nedostal do styku s vodou z toalety. Zkumavku dobře uzavřete.

Pokud zkumavku se stolicí odevzdáte v den odběru, uchovávejte v lednici a při chladničkové teplotě (například v termosce s ledem nebo na chladicí destičce) transportujte do laboratoře. Pokud odevzdáte později než 12 hodin po odběru, vzorek zamrazte a mražený jej transportujte do laboratoře. Nesmí dojít k rozmrazení vzorku!

Děkujeme Vám za spolupráci!

V případě potřeby mě, prosím, kontaktujte

prof. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D. 605 870 016

**Příloha III: detailní výsledky dotazníkového průzkumu**

<b>Respondent</b>	<i>slaná</i>	<i>sladká</i>	<i>hořká</i>	<i>kyselá</i>	<i>umami</i>	<i>trpká</i>	<i>pálivá</i>	<i>tučná</i>	<i>pohlaví</i>	<i>věk</i>	<i>výška (m)</i>	<i>váha (kg)</i>	<i>BMI</i>
1	3,00	<b>4,20</b>	3,60	<b>4,40</b>	<b>4,40</b>	<b>4,00</b>	<b>4,50</b>	2,20	žena	23	1,68	64	22,7
2	<b>4,40</b>	3,60	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	<b>3,80</b>	2,80	<b>4,60</b>	2,00	žena	24	1,66	60	21,8
3	<b>4,00</b>	3,40	3,20	2,60	<b>3,80</b>	<b>4,20</b>	2,20	3,00	žena	20	1,57	55	22,1
4	3,20	3,60	<b>3,80</b>	3,20	<b>4,20</b>	2,75	2,50	<b>4,25</b>	žena	21	1,58	60	24,0
5	<b>3,80</b>	2,60	<b>4,33</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	<b>3,50</b>	<b>5,00</b>	<b>4,60</b>	žena	26	1,80	84	25,9
6	3,60	3,80	<b>3,80</b>	2,20	<b>3,20</b>	3,00	2,00	<b>4,40</b>	žena	21	1,57	45	18,3
7	3,40	3,00	3,40	<b>3,80</b>	<b>4,40</b>	<b>3,60</b>	<b>3,00</b>	<b>3,80</b>	žena	19	1,70	51	17,6
8	3,20	<b>4,20</b>	3,20	<b>4,00</b>	<b>5,00</b>	<b>3,80</b>	<b>3,00</b>	2,25	žena	21	1,65	60	22,0
9	2,00	3,40	3,60	<b>3,80</b>	2,20	<b>3,60</b>	2,00	3,20	žena	20	1,72	66	22,3
10	<b>4,00</b>	3,80	3,20	<b>4,20</b>	<b>3,20</b>	<b>4,00</b>	<b>3,25</b>	3,00	žena	20	1,76	70	22,6
11	3,40	3,60	<b>5,00</b>	<b>4,20</b>	<b>3,20</b>	<b>3,40</b>	2,40	<b>4,00</b>	žena	24	1,70	85	29,4
12	3,40	<b>4,40</b>	3,40	<b>4,80</b>	<b>3,40</b>	<b>4,25</b>	<b>3,50</b>	<b>4,00</b>	žena	25	1,73	82	27,4
13	<b>3,80</b>	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	<b>4,60</b>	<b>3,40</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	žena	22	1,70	61	21,1
14	2,60	2,00	3,60	<b>4,20</b>	2,20	<b>3,80</b>	2,00	2,40	žena	22	1,65	60	22,0
15	2,80	2,60	3,20	<b>3,80</b>	2,50	3,00	<b>3,00</b>	2,40	žena	23	1,65	78	28,7
16	3,6	3,4	<b>3,8</b>	<b>4,8</b>	<b>3,4</b>	<b>3,6</b>	<b>3,4</b>	3,00	žena	26	1,74	65	21,5
17	<b>4,20</b>	<b>4,80</b>	3,60	<b>4,60</b>	<b>3,80</b>	<b>3,50</b>	2,25	3,20	žena	23	1,73	57	19,0
18	2,60	<b>4,20</b>	<b>3,80</b>	<b>4,00</b>	2,50	<b>3,80</b>	2,25	2,60	žena	22	1,60	50	19,5
19	3,40	<b>4,60</b>	<b>3,80</b>	3,00	<b>3,40</b>	<b>4,25</b>	2,75	<b>3,80</b>	žena	23	1,75	67	21,9
20	3,60	<b>4,60</b>	3,25	<b>4,25</b>	<b>3,25</b>	3,00	<b>3,00</b>	2,67	muž	22	1,85	81	23,7
21	<b>4,20</b>	<b>4,60</b>	3,40	3,60	<b>4,00</b>	<b>3,80</b>	2,80	<b>3,60</b>	žena	24	1,56	55	22,6
22	3,60	<b>4,80</b>	<b>4,00</b>	<b>4,40</b>	<b>3,20</b>	<b>4,25</b>	<b>3,25</b>	<b>3,40</b>	žena	21	1,68	62	22,0
23	3,20	<b>4,40</b>	3,60	<b>3,80</b>	<b>3,80</b>	<b>4,00</b>	1,60	<b>3,40</b>	žena	26	1,62	52	19,8
24	<b>4,20</b>	<b>5,00</b>	<b>4,60</b>	3,00	<b>3,60</b>	3,20	2,00	2,80	žena	22	1,75	65	21,2
25	3,00	<b>4,20</b>	3,40	3,60	2,40	<b>3,75</b>	2,00	2,40	žena	22	1,59	44	17,4

26	3,40	<b>4,60</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	2,40	3,20	<b>3,40</b>	2,80	žena	23	1,64	63	23,4
27	3,60	<b>4,60</b>	3,40	<b>3,80</b>	<b>3,50</b>	<b>4,00</b>	2,25	3,20	žena	22	1,70	63	21,8
28	3,40	<b>4,20</b>	2,80	2,80	2,20	2,60	2,50	2,80	žena	24	1,60	50	19,5
29	3,60	<b>4,00</b>	<b>4,40</b>	3,20	<b>3,50</b>	<b>3,50</b>	1,75	<b>4,00</b>	žena	21	1,65	68	25,0
30	2,20	2,40	<b>4,20</b>	3,20	2,00	3,20	2,60	1,80	žena	20	1,70	65	22,5
31	3,60	3,20	<b>4,80</b>	2,80	1,80	<b>3,75</b>	<b>3,00</b>	<b>3,60</b>	žena	23	1,60	52	20,3
32	<b>4,60</b>	2,60	2,80	<b>4,40</b>	<b>3,33</b>	<b>3,40</b>	<b>3,50</b>	3,20	žena	27	1,68	65	23,0
33	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	2,80	<b>3,40</b>	2,80	<b>3,40</b>	žena	24	1,56	58	23,8
34	<b>5,00</b>	3,80	<b>4,80</b>	3,00	<b>3,60</b>	<b>3,60</b>	<b>4,00</b>	<b>3,80</b>	žena	19	1,75	65	21,2
35	<b>4,20</b>	3,60	3,60	3,60	3,00	3,00	2,60	<b>4,00</b>	žena	24	1,63	53	19,9
36	<b>4,60</b>	<b>4,20</b>	2,00	3,40	2,00	3,00	2,20	<b>3,60</b>	žena	19	1,70	84	29,1
37	<b>5,00</b>	<b>4,60</b>	<b>4,40</b>	3,40	3,00	3,20	<b>4,20</b>	<b>4,40</b>	muž	26	1,83	80	23,9
38	<b>5,00</b>	<b>4,60</b>	<b>4,60</b>	<b>3,80</b>	<b>3,60</b>	<b>4,25</b>	<b>3,50</b>	2,40	žena	27	1,53	51	21,8
39	3,40	3,00	3,60	<b>3,80</b>	2,40	<b>3,60</b>	1,80	<b>3,60</b>	žena	24	1,65	60	22,0
40	<b>4,60</b>	<b>4,40</b>	<b>4,80</b>	<b>4,00</b>	2,00	2,60	1,80	<b>3,60</b>	žena	23	1,75	74	24,2
41	1,80	3,40	<b>4,60</b>	<b>4,40</b>	2,60	<b>3,60</b>	<b>4,00</b>	<b>3,60</b>	žena	22	1,69	68	23,8
42	3,40	<b>4,20</b>	<b>3,80</b>	3,00	2,20	2,60	2,00	<b>3,40</b>	žena	22	1,62	54	20,6
43	3,00	2,80	3,60	2,60	2,60	<b>3,40</b>	2,20	<b>4,20</b>	žena	23	1,59	56	22,2
44	2,40	2,60	3,40	<b>4,00</b>	2,40	<b>3,80</b>	<b>5,00</b>	<b>3,40</b>	žena	22	1,65	60	22,0
45	3,40	3,40	3,20	3,00	<b>4,40</b>	2,80	<b>4,60</b>	<b>3,80</b>	muž	20	1,90	91	25,2
46	2,60	<b>4,20</b>	<b>4,40</b>	<b>4,20</b>	2,80	3,20	2,20	3,20	žena	19	1,75	65	21,2
47	<b>3,80</b>	<b>4,00</b>	3,40	<b>4,40</b>	<b>4,20</b>	<b>4,25</b>	<b>4,75</b>	<b>3,40</b>	žena	23	1,70	60	20,8
48	3,20	<b>4,00</b>	2,40	3,60	3,00	2,40	2,00	<b>3,40</b>	žena	19	1,63	65	24,5
49	3,40	<b>4,60</b>	<b>4,20</b>	3,40	2,80	<b>4,20</b>	2,80	<b>3,40</b>	žena	23	1,63	70	26,3
50	3,40	<b>4,20</b>	2,40	2,40	<b>3,60</b>	2,20	<b>3,40</b>	<b>3,80</b>	žena	23	1,62	57	21,7
51	3,00	3,80	<b>4,80</b>	<b>3,80</b>	2,60	2,20	<b>3,40</b>	<b>3,40</b>	žena	23	1,66	57	20,7
52	<b>4,00</b>	<b>4,40</b>	<b>4,00</b>	<b>3,80</b>	2,40	3,00	2,20	<b>4,20</b>	muž	19	1,80	95	29,3
53	<b>3,80</b>	3,40	2,20	2,20	2,80	2,40	2,00	<b>3,40</b>	žena	20	1,70	75	26,0

54	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	3,60	<b>5,00</b>	1,80	<b>3,80</b>	<b>3,60</b>	3,20	žena	25	1,78	66	20,8
55	<b>4,60</b>	<b>4,75</b>	2,40	3,00	<b>3,20</b>	2,80	<b>3,50</b>	<b>3,80</b>	žena	23	1,58	59	23,6
56	<b>4,50</b>	<b>4,80</b>	2,40	3,25	<b>3,80</b>	2,50	1,60	<b>3,67</b>	žena	23	1,69	68	23,8
57	<b>4,00</b>	<b>5,00</b>	<b>4,80</b>	<b>4,50</b>	<b>4,40</b>	<b>4,80</b>	<b>4,50</b>	<b>4,20</b>	žena	23	1,80	69	21,1
58	<b>4,00</b>	<b>5,00</b>	<b>4,20</b>	<b>4,40</b>	<b>3,80</b>	<b>3,67</b>	<b>3,20</b>	<b>4,25</b>	muž	25	1,82	72	21,7
59	<b>4,75</b>	<b>5,00</b>	2,60	3,00	<b>4,33</b>	2,75	1,00	<b>4,67</b>	žena	22	1,65	52	19,1
60	<b>4,00</b>	3,25	<b>4,20</b>	3,00	2,75	<b>4,00</b>	<b>3,67</b>	3,20	muž	23	1,82	80	24,2
61	<b>5,00</b>	<b>4,60</b>	3,40	<b>3,75</b>	<b>4,00</b>	2,60	<b>3,50</b>	<b>4,20</b>	žena	23	1,74	50	16,5
62	3,20	<b>4,20</b>	3,20	<b>3,80</b>	3,00	<b>3,60</b>	1,00	2,60	žena	24	1,82	59	17,8
63	2,40	3,80	2,20	<b>4,00</b>	2,40	2,80	1,75	<b>4,20</b>	žena	22	1,70	75	26,0
64	<b>3,75</b>	<b>4,00</b>	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	2,40	<b>4,25</b>	2,75	2,40	žena	23	1,75	68	22,2
65	<b>4,40</b>	3,00	<b>4,80</b>	<b>4,20</b>	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	<b>5,00</b>	<b>4,40</b>	muž	24	1,86	69	19,9
66	3,50	<b>4,75</b>	3,20	2,80	3,00	2,67	2,00	<b>3,67</b>	žena	23	1,78	66	20,8
67	3,50	<b>4,20</b>	<b>4,80</b>	<b>4,60</b>	<b>4,00</b>	<b>4,50</b>	<b>5,00</b>	<b>3,75</b>	žena	24	1,63	52	19,6
68	<b>4,00</b>	<b>4,50</b>	<b>4,00</b>	3,20	2,80	3,20	2,25	2,40	žena	22	1,64	69	25,7
69	<b>4,40</b>	<b>4,00</b>	3,60	3,40	3,00	3,00	<b>3,25</b>	<b>3,80</b>	žena	23	1,72	56	18,9
70	3,60	<b>4,40</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	3,00	<b>3,50</b>	2,80	2,60	žena	23	1,72	58	19,6
71	3,60	<b>4,40</b>	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	2,50	<b>4,25</b>	<b>4,50</b>	<b>3,80</b>	žena	23	1,69	67	23,5
72	3,40	3,60	2,40	<b>3,80</b>	2,60	2,75	2,20	2,00	žena	23	1,72	63	21,3
73	3,00	<b>4,40</b>	3,20	2,80	2,75	2,75	1,75	2,00	žena	22	1,65	63	23,1
74	<b>4,20</b>	<b>5,00</b>	<b>4,00</b>	<b>4,60</b>	<b>4,20</b>	<b>3,60</b>	2,75	2,60	žena	25	1,60	55	21,5
75	3,20	3,40	<b>4,60</b>	3,40	<b>3,67</b>	<b>3,40</b>	<b>4,25</b>	<b>3,60</b>	muž	24	1,83	72	21,5
76	<b>3,75</b>	<b>4,00</b>	1,80	3,40	2,80	3,00	2,75	2,60	žena	22	1,67	55	19,7
77	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	<b>3,80</b>	3,40	<b>5,00</b>	3,33	2,50	2,60	žena	24	1,67	57	20,4
78	3,40	3,75	3,40	<b>4,40</b>	2,75	3,25	<b>3,25</b>	2,80	žena	24	1,76	98	31,6
79	3,00	<b>4,40</b>	<b>4,40</b>	3,60	<b>3,20</b>	3,00	1,00	2,20	žena	22	1,64	53	19,7
80	<b>3,75</b>	<b>4,20</b>	<b>3,80</b>	<b>3,80</b>	<b>3,40</b>	2,40	<b>3,75</b>	<b>3,40</b>	žena	23	1,62	61	23,2
81	<b>4,00</b>	2,20	2,60	3,20	3,00	2,00	1,75	3,00	muž	23	1,87	98	28,0

82	2,40	3,60	<b>4,00</b>	3,60	2,00	2,75	1,50	1,40	žena	23	1,64	54	20,1
83	<b>4,20</b>	<b>4,20</b>	<b>4,60</b>	<b>4,40</b>	<b>4,00</b>	3,20	2,75	<b>4,20</b>	žena	24	1,68	65	23,0
84	<b>4,00</b>	3,80	3,00	3,50	<b>3,50</b>	3,00	<b>3,33</b>	<b>3,40</b>	žena	23	1,67	48	17,2
85	<b>4,00</b>	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	2,40	3,25	<b>3,00</b>	3,20	žena	23	1,69	73	25,6
86	3,20	<b>4,60</b>	<b>4,00</b>	3,60	<b>4,00</b>	2,50	2,00	3,20	žena	22	1,70	48	16,6
87	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	3,60	<b>4,00</b>	2,25	<b>3,60</b>	2,50	3,20	muž	23	1,91	70	19,2
88	3,40	<b>4,00</b>	3,20	3,60	2,00	3,00	2,00	2,80	žena	22	1,74	65	21,5
89	<b>4,50</b>	<b>4,60</b>	3,20	3,40	2,50	<b>3,40</b>	2,00	<b>3,60</b>	žena	24	1,72	73	24,7
90	<b>3,80</b>	3,60	<b>4,60</b>	<b>4,40</b>	3,00	<b>4,75</b>	<b>4,60</b>	<b>3,40</b>	žena	25	1,59	60	23,7
91	<b>4,00</b>	<b>4,40</b>	<b>4,20</b>	3,60	2,00	<b>4,00</b>	<b>4,00</b>	<b>4,40</b>	žena	23	1,72	56	18,9
92	2,40	2,75	3,60	<b>3,80</b>	3,00	3,25	<b>3,00</b>	2,80	žena	22	1,70	63	21,8
93	2,40	2,60	<b>4,40</b>	<b>3,80</b>	3,00	3,25	<b>3,33</b>	<b>3,80</b>	žena	22	1,64	60	22,3
94	<b>4,00</b>	3,60	<b>4,80</b>	<b>3,80</b>	<b>3,40</b>	<b>4,00</b>	2,50	2,00	žena	22	1,67	62	22,2
95	3,00	2,00	3,40	3,00	<b>3,60</b>	<b>3,40</b>	<b>4,20</b>	<b>4,00</b>	muž	22	1,70	87	30,1