

Mendelova univerzita v Brně
Agromická fakulta
Ústav Morfologie, fyziologie a genetiky zvířat



**Role vybraných druhů *Lactobacillů* na fyziologii a imunitu
tenkého střeva člověka a prasete**

Bakalářská práce

Vedoucí práce:
Prof. MVDr. Zbyšek Sládek, Ph.D.

Vypracovala:
Eliška Moravcová

Brno 2017

Zadání

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci „*Role vybraných druhů Lactobacillů na fyziologii a imunitu tenkého střeva u člověka a prasete*“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

Podpis

PODĚKOVÁNÍ:

Chtěla bych moc poděkovat panu prof. MVDr. Zbyšku Sládkovi, Ph.D. za cenné rady a strávený čas při opravách a konzultacích mé bakalářské práce. Dále moc děkuji Michaele Tvrdíkové za pravopisnou korekturu a mému příteli, který měl trpělivost při řešení všech těžkých situacích během psaní této práce.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce pojednává o účinku čtyř vybraných druhů rodu *Lactobacillus* na imunitní systém a homeostázu tenkého střeva u lidí a prasat. Pro práci byly vybrány druhy *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* a *L. helveticus*. Rod *Lactobacillus* a jeho probiotické účinky jsou velmi diskutovaným tématem v rámci společnosti i vědeckých výzkumů. Přestože povědomí o účincích *Lactobacillů* je poměrně na vysoké úrovni, některá fakta nejsou stále zcela objasněna nebo rozšířena do znalostí široké veřejnosti. Práce objasňuje a zároveň shrnuje současný stav vědeckých výzkumů v oblasti účinků *Lactobacillů* na lidské zdraví a organismus prasat.

Klíčová slova: probiotika, *Lactobacillus*, imunitní systém, střeva, střevní mikroflóra

ABSTRACT

These bachelor theses deals with the effect of four chosen species from genus *Lactobacillus* on immunity system and homeostasis of small intestine in human and pigs. For this theses were selected four species: *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* and *L. helveticus*. The genus *Lactobacillus* and its probiotics impacts are very discussed topics within society and scientists teams. Although awareness of effects of *Lactobacillus* is on high level some facts are not completely understood or expanded to public. This work deals with, and also summarizes the current state of scientific research about the effects of *Lactobacilli* on human health and the organism of pigs.

Key words: probiotics, *Lactobacillus*, immunity system, intestine, gut microflora

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	CÍL.....	8
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
3.1	Probiotika:	9
3.2	Historie probiotik:	10
3.3	Přehled nejdůležitějších kmenů probiotických bakterií	11
3.4	Charakterizace nejdůležitějších probiotických kmenů.....	12
3.4.1	<i>Bifidobakterie</i>	12
3.4.2	Grampozitivní koky	13
3.4.2.1	<i>Lactococcus</i>	14
3.4.2.2	<i>Enterococcus</i>	14
3.4.2.3	<i>Streptococcus</i>	14
3.4.3	Kvasinkové mikroorganismy	15
3.4.4	<i>Lactobacillus</i>	15
3.5	Obecná stavba střevní stěny, její funkce a mikroflóra GIT	16
3.5.1	Střevní sliznice:.....	16
3.5.1.1	Stavba	16
3.5.1.2	Funkce	17
3.5.2	Střevní mikroflóra:.....	18
3.5.2.1	Složení střevní mikroflóry	19
3.6	Imunitní systém u člověka a prasete	19
3.7	Vliv probiotik na imunitní systém – obecná charakteristika.....	20
3.8	Vliv vybraných druhů <i>Lactobacillů</i> na imunitní systém člověka a prasete	23
3.8.1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	23
3.8.2	<i>Lactobacillus casei</i>	24
3.8.3	<i>Lactobacillus helveticus</i>	25
3.8.4	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	26
4	ZÁVĚR.....	28
5	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	29
6	SEZNAM ZKRATEK	34
7	SEZNAM OBRÁZKŮ	35

1 ÚVOD

Probiotika (z řečtiny „pro život“) jsou živé mikroorganismy, které blahodárně působí na daný organismus. Jsou schopny ovlivňovat střevní mikroflóru a působit tak pozitivně na imunitní systém. Zmínky o probiotikách a jejich prospěšných účincích na lidské zdraví jsou známy již od pradávna. Avšak podrobné studie byly provedeny až ve 20. století. Za zmínku stojí práce, vedené držitelem Nobelovy ceny za medicínu, Ili Mečnikova, který podrobněji popsal jejich účinek. Pojednával o prodloužení života jedince vlivem bakterií mléčného kvašení ve fermentovaném mléce a dále studoval jejich vliv na imunitní systém. Probiotika jako taková se nachází v celé řadě potravinářských i farmaceutických produktů a tvoří tak nedílnou součást každodenní

Probiotika, přijímaná v potravě či ve farmaceutických preparátech, mají za úkol pozitivně působit na trávicí trakt daného jedince. Udržují rovnováhu mezi druhy mikroorganismů, osidlujících střevní systém. Jsou také schopny ovlivňovat mikrobiální složení střevní flóry a bránit tak nežádoucímu osídlení trávicího traktu patogenními druhy mikroorganismů. Pokud by došlo ke změně rovnováhy mezi mikrobiálními druhy ve prospěch patogenů, mohl by tento výkyv způsobit různé druhy závažných problémů, které by mohly mít za následek trvalé narušení funkce gastrointestinálního traktu (GIT). V případě narušení střevní stěny mohou vznikat lehká onemocnění jako jsou různé druhy průjmů, atopický ekzém nebo laktózová intolerance. V případě rozsáhlejšího narušení homeostázy střev může problém vyústit až v závažná onemocnění typu idiopatických střevních zánětů (Cronova choroba, ulcerózní kolitida), či různých druhů nádorových onemocnění.

Probiotické bakterie interagují s buňkami střevní sliznice a imunitními buňkami. Tyto interakce zajišťují správné trávení potravy, udržují stálost prostředí tenkého střeva, ovlivňují pH, brání tvorbě toxických látek a v neposlední řadě udržují rovnováhu mezi patogenními a nepatogenními organismy.

Složení střevní mikroflóry se během života mění v závislosti na přijímané potravě, životnímu stylu a věku. Vzhledem k této skutečnosti je kladen čím dál větší důraz na preventivní užívání probiotických preparátů pro ochranu organismu daného jedince.

2 CÍL

Cílem této práce bylo vyhotovit přehled účinků čtyř vybraných druhů rodu *Lactobacillus* na fyziologii a imunitní systém tenkého střeva lidí a prasat. Pro práci byly vybrány druhy *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* a *L. helveticus*. Rod *Lactobacillus* představuje jednu z nejvýznamnějších probiotických skupin, kterou se zabývají vědci z celého světa. Práce obsahuje definice a zařazení nejznámějších probiotických kmenů, úvod do imunitního systému a stavby střevní stěny, souhrn účinků probiotických bakterií na lidské zdraví a popisuje vybrané reakce *Lactobacillů* v systému tenkého střeva.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Probiotika:

Probiotika jsou živé nepatogenní mikroorganismy, které mají pozitivní vliv na zdraví člověka a zvířat. Nejběžnější probiotické kultury jsou bakterie, které se přirozeně nachází v trávicím ústrojí. Tyto bakterie tvoří obrannou bariéru vůči možným potenciálním patogenům, přicházejícím do trávicího traktu. Přirozeně tedy udržují homeostázu střeva, brání proniknutí choroboplodných zárodků skrz střevní sliznici a tím i podporují vrozenou imunitu (Rada et al., 2009). U člověka mohou být využity jako prostředky ke tlumení alergických reakcí, imunostimulačních účinků a dále jako prevence proti zácpám, kolorektálnímu karcinomu a zánětlivým onemocněním střeva. Naproti tomu u hospodářských zvířat mají podíl při trávení potravy (důležité obzvláště pro přežvýkavce), kolonizační rezistenci (ochrana proti patogenům), tvorbě vitamínů – zejména skupiny B a K, imunostimulační funkci a v neposlední řadě produkují látky pro výživu enterocytů. Vzhledem k tomu, že se přirozeně vyskytují v trávicím traktu, jsou přidávány do potravin a krmných směsí prasat nebo jsou užívány ve formě potravinových doplňků stravy. V rámci jednotlivých kmenů probiotických bakterií se objevuje velmi rozdílný efekt na trávicí ústrojí (Václavová et al., 2011).

Nejdéle používané jsou bakterie mléčného kvašení (z angl. lactic acid bacteria – LAB), a to rody *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* a jiné. V dnešní době se výrazně dostávají do povědomí i rody *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium* a v neposlední řadě kvasinky (*Sacharomyces cerevisiae*). Zapomenout by se nemělo také na plísně (*Aspergillus oryzae*) (Rajput et al., 2012). S rozvojem nových technologií jsou získávány nové poznatky spojené s kolonizací střev a novými mikrobiálními kmeny.

Vzhledem k obsahu této práce je důležité definovat pojmy: prebiotika a symbiotika. Prebiotika jsou neživé nestravitelné složky potravin (zejména oligosacharidy), procházející trávicím traktem, které jsou schopny příznivě působit na probiotické bakterie. Svým účinkem mohou podpořit růst a jiné aktivity mikroorganismů v gastrointestinálním traktu. Mohou pomáhat vázat některé vitamíny, stopové prvky, ale i nežádoucí látky. Pro zařazení dané látky mezi prebiotika jsou přesně daná kritéria. Prebiotikum je schopno rozlišovat podnět růstu nebo jiné činnosti bakterií osidlujících střevo, musí mít schopnost projít skrz nízké pH v žaludku a je odolné vůči jiným hyd-

rolytickým enzymům. Příkladem může být jaterní vývod do části tenkého střeva. Důležité také je, aby bylo prebiotikum dobře stravitelné pro střevní bakterie. Důvodem je jeho služba jako živné médium pro růst probiotických bakterií. Příkladným zdrojem prebiotik je mateřské mléko, které je nezbytnou součástí výživy každého kojence. V případě výživy prasat se do krmných směsí přidávají fruktooligosacharidy či galaktooligosacharidy. Symbiotika zahrnují kombinaci probiotik i prebiotik. Dohromady vytvářejí spolupůsobící komplex, který přináší benefity pro daný organismus z obou zmíněných složek (Gibson et al., 1995).

3.2 Historie probiotik:

Traduje se, že původ probiotik a jejich používání při fermentaci mléčných výrobků je pradávný. Informaci o nich najdeme již v Bibli, kde je zmínka o kyselém mléce a fermentovaných kulturách. To dokazuje, že se bakterie mléčného kvašení používaly v širokém spektru při výrobě fermentovaných potravin ještě před tím, než Louis Pasteur prokázal jejich původ v roce 1857. Za zmínění stojí i to, že použití bakterií mléčného kvašení jako potravinových doplňků se vrací do doby před Kristem, kdy lidé pili zkvašené mléko. Další náznaky o výrobě a následné spotřebě díky blahodárným účinkům zkvašeného mléka na zdravotní stav člověka pochází také z Asie, zejména z oblastí středního východu a jihovýchodní Asie. Tato tradice se rozšířila díky Tatarům, Hunům a Mongolům do východní Evropy a Ruska (Kitazawa et al., 2014).

Za počátek probiotické éry se považuje rok 1907, kdy Ilja Mečnikov uvedl do povědomí svoji studii, týkající se dlouhověkosti občanů žijících na balkánském poloostrově. Tento vědec ve své práci uvádí, že díky požívání kysaných mléčných výrobků, obsahujících živé bakterie, se lidé z této oblasti dožívají vysokého věku (Rada et al., 2009).

Jako důsledek objevu živých bakterií se v dnešní době produkuje obrovské množství fermentovaných mléčných výrobků. Příkladem může být jogurt či kefirové mléko, díky nimž si obyvatelé těchto oblastí přisuzují jejich původ a tradici (Kitazawa et al., 2014).

Termín probiotikum vznikl roku 1965, kdy byl poprvé použit biology Lilly D. M. a Stillwell R. H. Tito vědci prováděli pokusy na prvocích, při kterých se jim podařilo, že látka z jednoho prvoka stimulovala růst druhého prvoka. Později se začal tento pojem využívat ve výživě hospodářských zvířat a lidí, kde označoval látky pozitivně

působící na trávicí trakt. Termín probiotikum pochází z latinského významu „pro život“, a tím pádem je tedy i nejpřesnějším antonymem slova antibiotikum. Do roku 1989 byla proto používána definice probiotik od Fullera ve znění: „*Probiotika jsou živé mikrobiální krmné doplňky, které příznivě ovlivňují hostitele zlepšením jeho střevní mikrobiocenoty.*“ (Krejsek Jan, 2012). Postupem času a úprav nedokonalostí této definice převzala její místo nová formulace, jež zní: „*Probiotika jsou živé mikroorganismy, které, jsou-li podávány v adekvátním množství, přispívají ke zlepšení zdravotního stavu hostitele.*“ (Krejsek Jan, 2012). O „přesnějším“ znění této definice se neustále vedou diskuze, v nichž se nachází názory, že slovo „živé“ je pouze zavádějící, protože pozitivní účinky na zdraví mají i inaktivované mikroorganismy a také pouze části buněčných komponent (Rada et al., 2005).

Doba probiotik nastala mezi 60. a 70. léty minulého století. Během této etapy byly nejpoužívanější bakterie mléčného kvašení, nicméně jen do doby, než proběhlo zavedení směsných kultur, které se později osvědčily v prevenci některých chorob hospodářských zvířat. Od zmíněného období až po současnost se využívají komerční směsi bakteriálních kultur, přesně definovaných pro jednotlivá využití ve výživě prasat a člověka (Rada et al., 2005).

3.3 Přehled nejdůležitějších kmenů probiotických bakterií

Tabulka 1 Přehled nejpoužívanějších probiotických kmenů

<i>Lactobacilly</i>	<i>L. acidophilus</i>
	<i>L. casei</i>
	<i>L. rhamnosus</i> GG
	<i>L. helveticus</i>
	<i>L. reuteri</i>
	<i>L. brevis</i>
	<i>L. lactis</i>
	<i>L. paracasei</i>
	<i>L. fermentum</i>
	<i>L. plantarum</i>

<i>Bifidobakterie</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i> <i>B. bifantis</i> <i>B. bifidus</i>
Grampozitivní koky	<i>Lactococcus lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>S. diacetylactis</i>
Kvasinkové mikroorganismy	<i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Saccharomyces cerevisce</i>

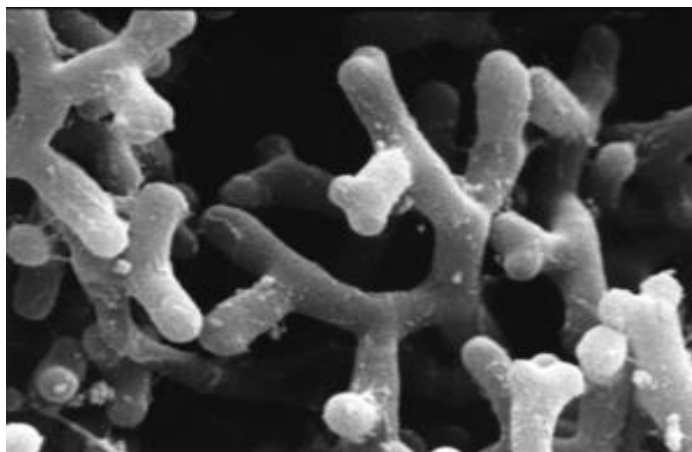
3.4 Charakterizace nejdůležitějších probiotických kmenů

Kompletní výčet probiotických kmenů přesahuje rozsah bakalářské práce, proto jsou zde uvedeny pouze významné kmeny, u kterých byly prokázány pozitivní účinky na zdraví člověka i prasat. Konkrétně se jedná o *Bifidobakterie*, Gram pozitivní koky, kvasinkové mikroorganismy a *Lactobacilly*.

3.4.1 *Bifidobakterie*

Bifidobakterie patří mezi anaerobní kmen grampozitivních nepravidelných nesporelujících tyčinkovitých bakterií. Poprvé byly izolovány roku 1899 Henrim Tissierem ze stolice kojených dětí a byly nomenklaturně zařazeny jako *Bacillus bifidus*. Později roku 1924 byl rod *Bifidobacterium* klasifikován Orlou Jensen, avšak *Bifidobakterie* byly dále rozděleny do jiných taxonomických skupin. Po několika desetiletích, konkrétně roku 1973, byl rod *Bifidobacterium* uznán samostatným (Ju-hoon et al., 2010).

V současné době je zařazeno 31 druhů *Bifidobakterií*, které se z části podobají svou genetickou informací. Nachází se v GIT i v urogenitálním ústrojí živočichů. Jsou jedny z nejdůležitějších bakterií, které se vyskytují v trávicím traktu člověka. Jejich procentuální zastoupení se mění v průběhu celého života, avšak v dospělém věku se hodnota stabilizuje na 3 – 6 % z celkové mikrobiální populace, která osidluje GIT. Jednu ze zásadních rolí hrají *Bifidobakterie* již při raném vývoji střevní mikroflóry člověka i prasete. Jejich přítomnost ve střevech je zásadně ovlivněna podáváním mateřského mléka. V případě umělé výživy je jejich množstevní zastoupení výrazně nižší. Mimo jejich podílení se na stálosti střevního mikrobiomu jsou také nedílnou součástí imunitního systému. Mají schopnost tvořit kyselinu mléčnou a soli či estery kyseliny octové ze sacharidů. Dále mají bezkonkurenční zdravotní a dietické účinky. Jejich prospěšný vliv se využívá při léčení poruch v GIT, nejvíce v kombinaci s *Lactobacillus acidophilus*. Přidávají se do celé řady potravin, nebo v kombinaci s jinými probiotickými bakteriemi do různých doplňků stravy (Brand et al., 2016).



Obrázek 1 Snímek *Bifidobakteriálních* buněk z elektronového mikroskopu (Tannock, 2014)

3.4.2 Grampozitivní koky

Mezi bakterie, které mají účinky probiotik, se řadí také fakultativně anaerobní grampozitivní koky. Nejvýznamnějšími rody jsou *Lactococcus*, *Enterococcus* a *Streptococcus*. Jejich typickým znakem je tvorba řetězů koků. Většinou potřebují různorodou skupinu substancí pro svůj vývoj.

3.4.2.1 *Lactococcus*

Původně patogenní rod *Lactococcus* (ne-hemolyzující červené krvinky) byl vyřazen od rodu *Streptococcus* a byl uznán samostatným díky svému užití v mlékárenském průmyslu. Nejdůležitějším zástupcem je *Lactococcus lactis*, patřící do skupiny LAB. Má schopnost vytvářet laktát ze sacharidů. Na významnost tohoto rodu poukazuje zejména rychlý růst a tvorba kyseliny mléčné v mléce. Dále se využívá k výrobě sýrů a kysaných mléčných výrobků (Šilhánková, 2002).

3.4.2.2 *Enterococcus*

Rod *Enterococcus* byl po roce 1980 oddělen od rodu *Streptococcus*. Díky pokroku ve vědě, a tedy i možné hybridizaci DNA, bylo zjištěno, že jsou mezi těmito rody významné odlišnosti, proto došlo k jeho osamostatnění. Tato skupina aktuálně zahrnuje přibližně 50 zástupců, včetně *Enterococcus faecium* a *Enterococcus faecalis*, které se nejčastěji nachází v přítomnosti GIT savců, zejména v tlustém střevě (Schindler, 2010). Jsou přítomny v mnoha potravinářských produktech, které jsou označeny za zdravotně nezávadné, přestože tomu tak ze sta procent nemusí být. Některé druhy mohou produkovat virulentní faktory, které mohou být příčinou velkého počtu infekcí. Navzdory tomu jsou někteří zástupci vhodní pro podpůrnou léčbu průjmových onemocnění, způsobených užíváním antibiotik u dětí. Další představitelé *Enterokoků* se využívají jako probiotika v komerčně dostupných produktech (Henning et al., 2015).

3.4.2.3 *Streptococcus*

Rod *Streptococcus* zahrnuje rozmanitou skupinu druhů, patogenních i nepatogenních. Jsou běžně přítomné u člověka i prasete. Jedním z nepatogenních zástupců je *Streptococcus thermophilus*, který se běžně nachází ve střevech člověka i prasete a je hojně využíván v mlékárenském průmyslu (Couvigny et al., 2015). Naproti tomu existuje nepřehledné množství patogenních komenzálních zástupců, jejichž enzymy jsou schopny α a β – hemolýzy erytrocytů. Mohou být příčinami mnoha onemocnění. Příkladem je angína, spála a jiné (Šilhánková, 2002).

3.4.3 Kvasinkové mikroorganismy

Mezi nejvýznamnější probiotické druhy kvasinkových mikroorganismů patří *Saccharomyces boulardii*. Tento druh byl objeven roku 1920 Henrim Boulardem při studiu nových druhů kvasinek s potenciálními fermentujícími účinky. Svoji strukturou se kvasinkové mikroorganismy liší od ostatních bakteriálních probiotických kmenů. Rozdíl se nachází ve velikosti, fyziologii, či v tom, že je neovlivňují antibiotika. Typickým znakem je také jejich odolnost vůči nízkému pH. Na jedinečnost *Saccharomyces boulardii* poukazuje také fakt, že nejsou používány v kombinaci s jinými probiotickými kmeny.

Většina probiotických bakterií má více mechanismů účinku a není tomu jinak ani u druhu *S. boulardii*. Tyto mechanismy lze rozdělit na tři skupiny: interakce v lumenu střeva, stimulace množení buněk a protizánětlivé účinky ve sliznici střeva. V případě interakcí v lumenu střeva se jedná o udržení přirozené fyziologie buněk, obnovu mastných kyselin a v neposlední řadě může působit jako regulátor imunitních reakcí.

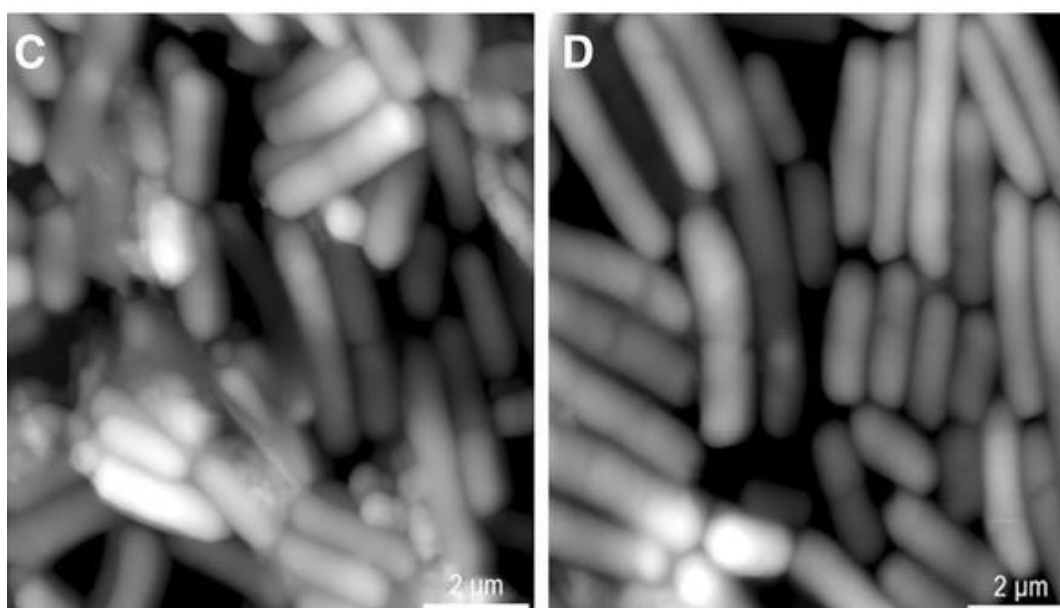
Velkou výhodou je při použití kvasinek také schopnost interakce s patogenními organismy, které vnikají do střeva z vnějšího prostředí. Mechanismus působení dokáže zablokovat receptory pro patogenní toxiny. Má schopnost sloužit jako receptor pro nežádoucí látky a dokáže zapříčinit destrukci toxických látek patogenu (Mcfarland et al., 2010).

3.4.4 *Lactobacillus*

Rod *Lactobacillus* představuje rozmanitou skupinu komenzálních organismů osídlujících trávicí trakt člověka i prasete. Patří mezi nejdůležitější rody skupiny LAB. Strukturně náleží do gram pozitivních nesporelujících anaerobních tyčinek, které si získávají energii z kyseliny mléčné (Coeuret et al., 2003). V současné době je známo okolo 80 druhů, které se z fylogenetického hlediska dělí na 7 skupin: *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus reuteri* a *Lactobacillus casei*. Jednotlivé druhy mají široké spektrum účinků. Pomáhají udržovat stálost střevní mikroflóry, mohou zmírnit syndrom dráždivého tračníku nebo průjemy, dále se podílejí na imunitních reakcích ve střevech a v neposlední řadě se účastní fermentace v potravinářském průmyslu (Belguesmia et al., 2016). Významnou funkcí je také ochrana a posilování imunitního systému (Soccol et al., 2010).

Jednotlivé druhy se dělí do dvou skupin podle toho, zda při kvasných procesech tvoří kyselinu mléčnou, ethanol a další látky, nebo pouze kyselinu mléčnou. Mezi jejich zástupce patří i druhy s probiotickými účinky. Zde je krátký seznam *Lactobacillů* s probiotickými účinky: *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* GG, *L. helveticus*, *L. paracasei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. brevis*, *L. johnsonii*, *L. plantarum* a *L. fermentum* (Madsen et al., 2001).

Vzhledem k rozsáhlosti této skupiny bude práce zaměřena na *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* GG a *L. helveticus*.



Obrázek 2 Snímek *Lactobacillů* z elektronového mikroskopu C – *Lactobacillus acidophilus*, D – *Lactobacillus casei* (Mokrozub et al., 2015)

Jak již bylo uvedeno, místem účinku probiotik je zejména GIT, konkrétně pak tenké střevo. Proto dále následuje stručná strukturální charakteristika tenkého střeva.

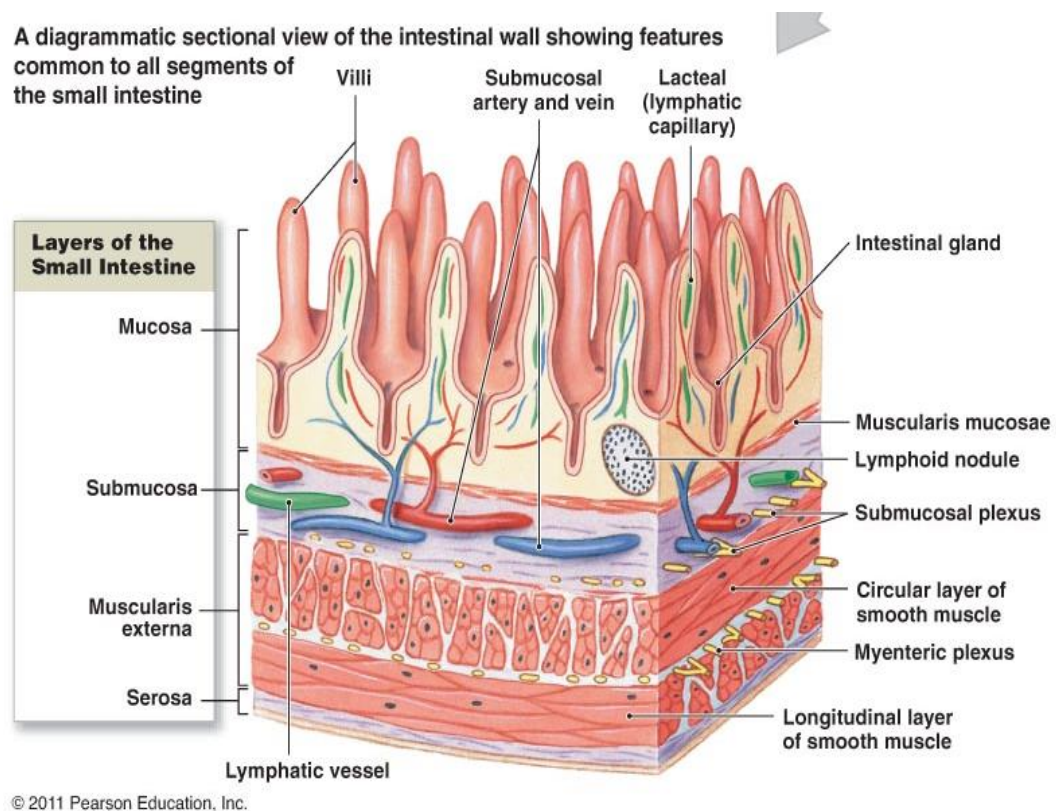
3.5 Obecná stavba střevní stěny, její funkce a mikroflóra GIT

3.5.1 Střevní sliznice:

3.5.1.1 Stavba

Střevní stěna se skládá z několika vrstev, jak je patrné z obrázku 3. Konkrétně se jedná o sliznici (tunica mucosa), podslizniční vazivovou vrstvu (tela submucosa), sva-

lovinu (tunica muscularis) a serózu (tunica serosa). Sliznici tvoří 3 vrstvy: epitel sliznice, vlastní list sliznice a svalovina sliznice. Epitel, pokrývající povrch sliznice, je jednovrstevnatý cylindrický. V tomto epitelu jsou uloženy enterocyty a pohárkové buňky, což jsou resorpční a ochranné buňky, vylučující hlen na povrch sliznice. Sliznice vytváří klky a řasy, které mnohonásobně zvětšují povrch střeva. Mezi klky končí vývodné části střevních žláz. Pod sliznicí je vrstva slizničního vaziva, která je tvořena kolagenním vazivem a nachází se v ní bohatá nervová pletěň a lymfatická a krevní síť cév. Další částí je malá vrstva hladké svaloviny, která je tvořena svalovinou uspořádanou vně longitudinálně a uvnitř cirkulárně. Poslední vrstvou je seróza (Švíglerová et al., 2013).



Obrázek 3 Stavba střevní stěny (Pearson Education, 2011)

3.5.1.2 *Funkce*

Střevní sliznice tvoří rozhraní mezi vnějším a vnitřním prostředím. Není užitečná pouze pro vstřebávání živin z potravy, ale její součástí je více než polovina buněk imunitního systému. Obsahuje tedy lymfatickou tkáň, která je spojena se střevem. Jinými slovy gut – associated lymphoid tissue tzv. GALT. Tvoří ji Peyerovy plaky, které se skládají ze skupiny lymfatických uzlíků a jsou obsaženy v největší míře ve

sliznici tenkého střeva. Další složkou jsou rozmístěné imunitní buňky, které tvoří B a T-lymfocyty, nacházející se mezi buňkami epitelu sliznice. Na skladbě se podílejí také žírné a plazmatické buňky, které jsou obsaženy ve slizniční vazivové vrstvě. V neposlední řadě se zde nacházejí M-buňky, které jsou určeny k transportu možných patogenů k buňkám lymfatického systému (Švíglerová et al., 2013).

Střevní sliznice je neustále atakována nepřeborným množstvím podnětů z vnějšího okolí. Díky této skutečnosti musí mít přesně řízený systém. Obranný systém je regulován tak, aby byla provedena selekce podnětů na odpověď slizničního imunitního systému. Odezva tedy vzniká pouze na vážné ataky mikroorganismy či jinými patogeny, které přicházejí do trávicího traktu z vnějšího prostředí (Krejsek, 2012).

Všechny výše uvedené systémy patří mezi specifické odpovědi imunitního systému. Mimo tyto odezvy využívá gastrointestinální trakt i nespecifickou odpověď imunitního systému, a to například přítomnost fagocytů a celistvost bariéry sliznice střeva (Švíglerová et al., 2013).

3.5.2 Střevní mikroflóra:

Mikroorganismy jsou hlavní složkou strukturně – funkčního systému střeva. Jsou obsaženy ve střevním epitelu a jsou také nedílnou součástí slizničního imunitního systému. Tento soudržný systém by měl být neustále v rovnováze a je také zodpovědný za „neporušenost“ slizniční imunity (Belguesmia et al., 2016). Jakékoliv narušení této rovnováhy by mohlo způsobit průnik patogenních organismů. Příkladem jsou v dnešní době používaná antibiotika, která rozrušují oblast střevní sliznice a mohou tak zapříčinit rozšíření patogenů z vnějšího prostředí či potravy (Bäumler et al., 2016).

Střevní mikroflóra je systém, který tělo získává po vlastním porodu. Jde o působení a kolonizaci střev vnějšími mikroorganismy a mikroorganismy osidlujícími porodní cesty matky. Trávicí trubice embrya je čistě sterilní. Kolonizace začíná právě skrze porodní kanál a počátečním stykem s vnějším prostředím. Prvními mikroorganismy, které přichází do trávicí trubice, jsou rody *Streptococcus* a *Enterobacter*, pocházející právě z porodních cest matky. Díky své schopnosti úplného využití kyslíku ve střevě připravují prostředí pro další část mikroorganismů osidlujících trávicí trakt. Jsou to převážně rody bakterií *Bacterioides* a *Bifidobacterium*. Nezbytnou součástí správné kolonizace, a tedy i rovnováhy slizniční imunity, je kojení. Další vývoj střevní

mikroflóry závisí na druhu přijímané potravy u každého jedince. Kolonizace ovlivňuje také funkci a aktivitu buněk epitelu střevní sliznice (Krejsek, 2012).

3.5.2.1 Složení střevní mikroflóry

Střevní mikroflóra člověka obsahuje přibližně 100 trilionů bakterií, které náleží mezi 500 různých druhů. První bakteriální druhy osidlující trávicí trakt jsou druhy čistě aerobní či fakultativně aerobní, mezi které patří mimo jiné i druhy *Lactobacillů*, *Streptokoků* a koliformních mikrobů. Díky tomu, že jsou schopny snižovat oxido – redukční potenciál, mohou přijít na řadu i anaerobní bakterie. Postupem času zůstává střevo osídleno zejména anaerobními druhy. Příčinou je přechod na pevnou stravu. Příkladem může být rod *Bifidobacterium* a *Bacterioides* (Fryč, 2010).

3.6 Imunitní systém u člověka a prasete

Imunitní systém člověka a prasete se podílí na udržení homeostázy organismu. Pro udržení tohoto stavu spolupracuje zejména s nervovou a endokrinní soustavou. Skládá se z buněk, proteinů a orgánů, které zajišťují celkovou komplexitu tohoto systému. Stará se o odpověď na podněty z vnějšího prostředí, a brání tak proniknutí nežádoucích mikroorganismů do systému jedince. Na tyto podněty odpovídají imunitní buňky, všechny vyvinuté z pluripotentních kmenových buněk, které se tvoří v primárních lymfatických orgánech (kostní dřeň a brzlík) a následně se ve stádiu zralosti uchovávají v sekundárních lymfatických orgánech (mízní uzliny a slezina). Tyto buňky mohou zároveň procházet krevním a mízním řečištěm, či samotnou tkání. Imunitu organismu můžeme rozdělit na dvě části, specifickou a nespecifickou (Berniacková et al., 2014).

Nespecifická, neboli tělu vlastní imunita zahrnuje sled reakcí, kterými organismus jedince přirozeně a okamžitě odpovídá na napadení antigenem. Organismus je schopen vysokou rychlostí reagovat pomocí efektorových buněk na podnět z vnějšího prostředí, přestože s danou strukturou nemusel přijít do styku. Během fylogenetického vývoje si organismy vytvořily receptory, které na svém povrchu nesou zejména dendritické buňky, makrofágy a B-buňky. Mají schopnost rozpoznat typické znaky mikrobů. Rozpoznávacím signálem může být genetická informace bakterií a virů, glukany kvasinek a jiné (Votava et al., 2007). Jedná se o reakci bez uchování informací

pro další případný střet se stejným organismem. Příkladem takto zprostředkované reakce je fagocytóza (Jelínek et al., 2003).

Fagocytóza je proces, kdy pseudopodia imunitních buněk (například zástupci polymorfonukleárních leukocytů a makrofágů) obklopí poměrně velký nežádoucí objekt a jsou schopny svým enzymatickým komplexem narušit jeho strukturu. Tím ho vyřazují z funkce. Dalším obranným prvkem nespecifické imunity je okamžité zvýšení teploty organismu, díky vypuštění pyrogenních látek a tím i zabránění zmnožení patogenů (Šilhánková et al., 2002).

Specifická, neboli získaná imunita je svými schopnostmi dokonalejší než imunita nespecifická, avšak bez jedné či druhé by organismus nemohl fungovat. Za pomoci B a T lymfocytů, které nesou specifické receptory se schopností zaznamenat antigen, dokáže vyvolat řadu po sobě jdoucích reakcí, které mají za úkol vyřadit patogenní organismus z jeho funkce. Principem je rozpoznání povrchových znaků mikroorganismů a jejich následné uchování v imunitní paměti pro případ dalšího setkání s patogenní strukturou (Toman et al., 2000).

V rámci charakteristiky imunitního systému člověka a prasete se nachází pár drobných odchylek. S ohledem na zpracování této bakalářské práce se tento odstavec věnuje pouze odlišnostem ve struktuře GIT. V koncové části kyčelníku (ileum tenkého střeva) se nachází kontinuální Peyerův plak přibližně 1 metr dlouhý, obsahující vysoké množství B lymfocytů. V organismu prasat se netvoří imunoglobuliny typu D. Rozdílnosti ve struktuře se objevují i v lymfatické tkáni sliznice střeva. Příkladem může být odlišnost strukturního složení enterocytů, či to, že mláďata prasat nedisponují v lamina propria klků a epitelu žádnými lymfocyty (Toman et al., 2000).

Před kapitolou popisující vliv vybraných druhů *Lactobacillů* na imunitní systém člověka a prasete, bude uvedena obecná charakteristika o vlivu probiotik na imunitní systém.

3.7 Vliv probiotik na imunitní systém – obecná charakteristika

Vzhledem k tomu, že do GIT směřuje obrovské množství možných patogenních mikroorganismů, musí být udržována naprostá integrita celého systému. Důležitou součástí imunitního systému je rozlišovací schopnost mezi nežádoucími mikroorga-

nismy a žádoucími, kterými mohou být právě probiotické bakterie. Nevhodnou odpovědí imunitního systému mohou vznikat závažná onemocnění jako zánětlivé onemocnění střev nebo alergie na potraviny (Wang, 2014).

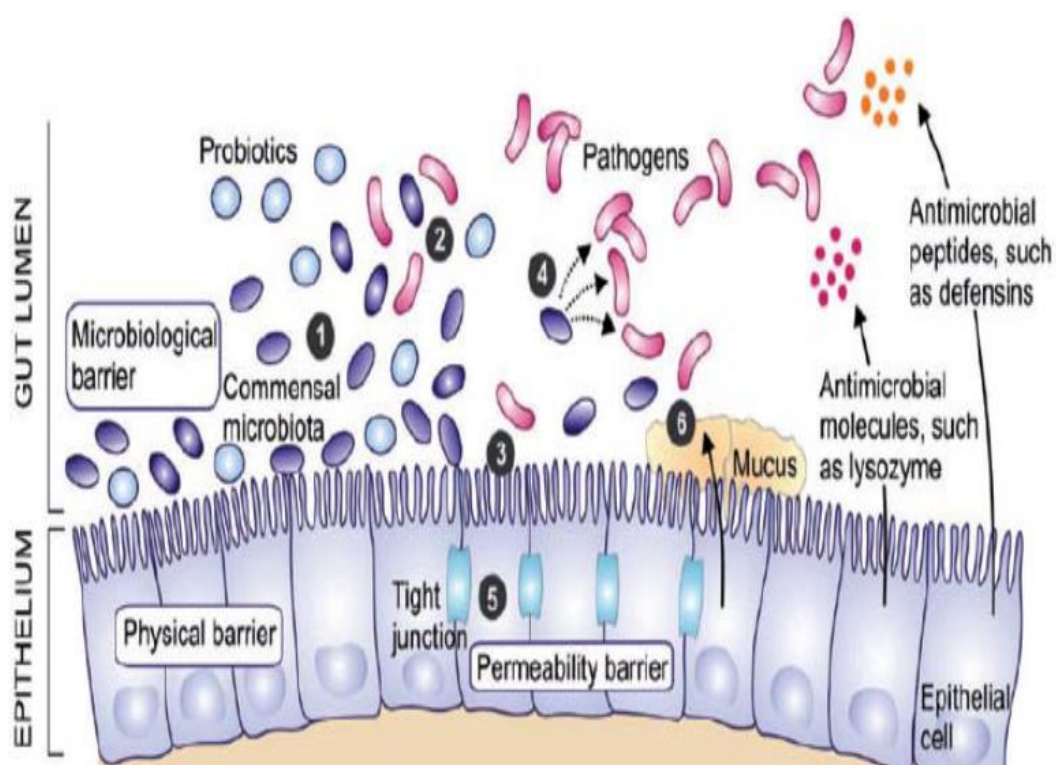
Probiotické bakterie jsou v neustálém kontaktu s epitelem střeva a imunitními buňkami. Dendritické buňky, které se spolu účastní nespecifické imunity, jsou rozmístěné v lamina propria, nebo volně po celém GALT. Výjma zajištění stálosti mikrobiálního složení v GIT podporují probiotika imunologickou bariéru střeva. Mnohé studie dokládají, že probiotika mohou zvyšovat účinnost nespecifické imunity vůči různým patogenům a mohou tím pomáhat k jejich rychlému odstranění z trávicího traktu (Isolauri et al., 2001).

Probiotika mohou při běžném užívání pomáhat lepšímu trávení potravy a mohou mít celkově pozitivní vliv na zažívání. Působení jednotlivých druhů probiotik může být vůči patogenům antagonistické. Jsou schopny navázání do receptorů buněk (metoda zámku a klíče), nacházejících se ve střevní sliznici, a tím brání napadení organismu. Stejným způsobem mohou obsadit tato místa i nežádoucí mikroorganismy, a způsobit tak šíření infekce. Svoji strukturou mohou podporovat tvorbu kyseliny máseelné a cytokinů, sekrece imunoglobulinů A a dalších substancí, které jsou schopny potlačovat patogeny. Tyto látky se dále vyznačují antibakteriálními a antimikrobiálními účinky, čímž podporují obranyschopnost. Každý organismus potřebuje k aktivaci imunitní reakce speciální signální receptorové buňky (Rajput et al., 2012). Většina interakcí mezi *Lactobacilly*, imunitními buňkami a epitelem střevní stěny je zprostředkována za pomoci tzv. MAMPs (z angl. microbe – associated molecular patterns), které rozpoznávají speciální receptory tzv. PRRs (z angl. pattern recognition receptors) jako jsou třeba TLRs (z angl. toll – like receptors) (Segers et al., 2014).

Struktura střeva může být narušena nadměrným užíváním antibiotik, špatnou životosprávou a jinými většími výkyvy stavu organismu. Tyto odchylky způsobují změnu ve stavbě střevní sliznice a zapříčiňují tak vypuštění nadměrného množství stresových hormonů. Tento stav může být fatální pro daný organismus. V případě narušení střevní sliznice vlivem nízkého pH může docházet k následné kolonizaci mikroorganismy jako jsou *Escherichia coli*, *Salmonella* a jiné. Bylo prokázáno, že probiotika navrací zpět kolonizační rezistenci a trávicí trakt do původního stavu rovnováhy. Přibližný denní příjem člověka by se měl pohybovat okolo 10^6 - 10^9 CFUs (z angl. colony-forming units). Tato hodnota odpovídá hranici, která je považována pro daný organismus za prospěšnou.

Z obecného hlediska je zánět způsoben nestabilitou střevní mikroflóry. Je tomu tak i v případě průjmového onemocnění, způsobeného rotaviry. Toto onemocnění způsobuje vysoká hladina fekální ureasy. Dochází ke štěpení močoviny za vzniku amoniaku, čímž dochází ke snižování pH. Ureasa je pro rotaviry vedlejším produktem metabolismu (Schiffrin et al., 1995).

Lactobacilly zvyšují hladinu interferonu γ produkcí mononukleárních buněk v periferní krvi. Tato látka je schopna reakce proti antigenům v Peyerových placích a zároveň brání střevní sliznici (Mokrozub et al., 2015).



Obrázek 4 Možný mechanismus účinku probiotických bakterií a reakce střevních buněk (Kekkonen, 2008)

1. Komenzální mikroorganismy
2. Soupeření s patogeny o volné receptory
3. Inhibice patogenů
4. Tvorba antipatogenních látek
5. Posílení slizniční bariéry
6. Tvorba mucinu

Ve výživě prasat se využívá zejména rod *Enterococcus*, vybrané druhy rodu *Lactobacillus* (zejména druh *L. acidophilus*) a rod *Lactococcus*. Jednotlivé druhy hrají zásadní roli při ochraně sliznice střeva v různém stádiu vývoje prasat. Využívá se speciálních směsí krmných dávek, které způsobují snižování pH. Kyselé prostředí chrání GIT před nežádoucím množением patogenních mikroorganismů. Správné složení krmiva následně zvyšuje odolnost vůči stresu a snižuje procento průjmů u mláďat. Tím se získává vyšší denní přírůstek a kvalita masa. Probiotické bakterie významně ovlivňují metabolismus prasat, čímž zásadně podporují imunitní systém (Knoflíček, 2005).

3.8 Vliv vybraných druhů *Lactobacillů* na imunitní systém člověka a prasete

Vzhledem k rozsáhlosti rodu *Lactobacillus* byly vybrány čtyři následující druhy pro charakterizaci v této práci: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus* a *Lactobacillus rhamnosus* GG.

3.8.1 *Lactobacillus acidophilus*

Druh *L. acidophilus* je jeden z nejznámějších, nejprostudovanějších a nejvyužívanějších druhů z rodu *Lactobacillus*. Objeven byl již na začátku 20. století a dle fenotypových charakteristik patří do skupiny *Thermobacterií*, které nefermentují pentózy, a teplota pro jejich ideální růst se pohybuje okolo 45 °C. Jejich velikost se pohybuje mezi 2–10 μm. Jsou charakteristické tím, že při jejich činnosti (fermentaci) vzniká pouze jeden konečný produkt (Anjum et al., 2014).

Druh *L. acidophilus* je přidáván do velké řady mléčných výrobků kvůli svým probiotickým vlastnostem i chuti. Je jedním z nejvíce komerčně využívaných probiotických druhů. Dle některých studií může podporovat fagocytózu, zodpovědnou za aktivaci zánětlivé reakce, která nastupuje ještě před produkcí protilátek. V posledních letech se objevují studie o zvýšení fagocytární aktivity u jedinců s atopickým ekzémem a alergií na určité druhy potravin. To dokazuje, že míra fagocytózy je výrazně ovlivněna probiotickými bakteriemi a zároveň se liší u zdravých jedinců a těch, kteří mají nějakou alergii. Jeho významnou rolí je možná prevence před tzv. cestovatelským průjmem, který způsobuje konzumace kontaminovaných potravin či vody v cizích zemích. Tento druh je také schopen snížit závažné, mnohdy smrtelné onemocnění střev

novorozenců, tzv. NEC (z angl. necrotizing enterokolitis), což je onemocnění nedonošených dětí. Tato choroba způsobuje infekci a zánět tkáně střeva (Singhi et al., 2016).

Mnohé studie dokazují, že druh *L. acidophilus* byl prospěšný ve zmírnění negativních účinků *Escherichia coli*. Zmíněný patogen může způsobovat disfunkce jako zvýšená propustnost epitelu střevní stěny a fosforylace membránových proteinů (Anjum et al., 2014).

Jiné studie dokazují, že tento druh probiotik může ovlivňovat tvorbu zánětlivých faktorů jako jsou TNF – α , IL – 1 β , CCL2 a IL – 6. *Lactobacillus acidophilus* může velmi rychle a účinně indukovat tvorbu cytokinů a chemokinů. Ty významně ovlivňují imunitní buňky v GIT a zároveň jsou nedílnou součástí imunitních a zánětlivých odpovědí imunitního systému (Jiang et al., 2012).

Dalším benefitem tohoto druhu je možná ochrana proti virovým infekcím. V případě napadení organismu virovou infekcí dochází ke stimulaci imunitních odpovědí a ochraně organismu (Weiss et al., 2010).

3.8.2 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei je dalším ze zástupců LAB. Jeho izolace byla poměrně snadná, jelikož se přirozeně vyskytuje na různých místech v prostředí, jako je maso, mléko, fermentované mléčné výrobky, rostlinné produkty a jiné. Mimo tato prostředí se objevuje také v dutině ústní a trávicím a urogenitálním traktu lidí i prasete. Zařazuje se mezi druhy, které získávají kyselinu mléčnou z hexózových sacharidů. Jeho využití je velmi rozmanité, v potravinářském průmyslu je hojně využíván jako kultura pro výrobu tvrdých sýrů. Ve velké míře se používá také jako probiotický přídatek do jogurtů a kefírových nápojů. Jeho další využití je na výrobu kyseliny L – mléčné (Dahroud et al., 2016).

Jako jeden z druhů LAB je velmi účinným nástrojem pro zvyšování obranyschopnosti organismu. Dle současných studií je *Lactobacillus casei* schopen navozovat a podporovat vrozenou i získanou imunitu. Tomu napomáhá interakce s epiteliálními buňkami střeva prostřednictvím TLR – 2 receptorů, tím také dochází k uvolnění IL – 6 (Kaila et al., 1992).

Schopností tohoto druhu je také modulace střevní mikroflóry, čímž může zabránit těžkým průjmům. Dále může zamezit zánětlivým onemocněním střev systémem snižování hladiny protizánětlivých cytokinů, zejména IFN – γ (interferon – γ) a IL – 6

v mononukleárních buňkách, které se nacházejí v lamina propria střevní stěny (Matsumoto et al., 2005). *Lactobacillus casei* může být schopen stimulovat tvorbu makrofágů (Isolauri et al., 2001).

Další oblastí, která souvisí s blahodárnými účinky druhu *L. casei*, je obezita, která je velkým problémem po celém světě. Téměř 2 miliardy lidí po celém světě trpí nadváhou, a proto se tomuto obrovskému, neustále se rozšiřujícímu problému snaží čelit. Složení střevní mikroflóry se velmi liší u zdravých jedinců a u těch trpících obezitou. Druh *L. casei* je běžně dostupným, komerčně dodávaným probiotickým preparátem a dle mnoha studií je jeho podávání vhodné pro redukci tuku a hmotnosti (Karimi et al., 2015).

3.8.3 *Lactobacillus helveticus*

Lactobacillus helveticus patří dle fylogenetických studií do skupiny *Lactobacillus delbrueckii*. Do stejné skupiny patří také druh *L. acidophilus*, což značí jejich vysokou příbuznost. Navzdory tomu je *Lactobacillus acidophilus* v současné době mnohem více prostudován, a proto je u druhu *L. helveticus* ještě velký prostor k podrobnějším studiím jeho probiotických účinků. Tento druh je schopen přímo či nepřímo ovlivňovat lidské zdraví. Způsobů ochrany imunitního systému je více, avšak mezi nejdůležitější patří inhibice nežádoucích mikroorganismů, snížení nežádoucí kolonizace trávicího traktu patogeny, získávání prospěšných peptidů z přijímané potravy či podpora trávení a získávání živin pro daný organismus. *L. helveticus* může sloužit jako podpůrný prostředek proti rezistenci patogenů. Tato skutečnost je vážným problémem, který ovlivňuje daný organismus. Tento problém vzniká nevhodným a příliš častým užíváním antibiotik (Taverniti et al., 2012).

V několika studiích bylo poukazováno na prospěšný a antagonistický účinek v případě enterokolitidy způsobené *Campylobacter jejuni* a onemocnění, které způsobuje *Salmonella typhimurium* (Vinderola et al., 2007). Prospěšnou funkcí je také synergistická aktivita s jinými probiotickými rody. Může podpořit obnovu střevní mikroflóry po těžkých průjmech, způsobených užíváním antibiotik.

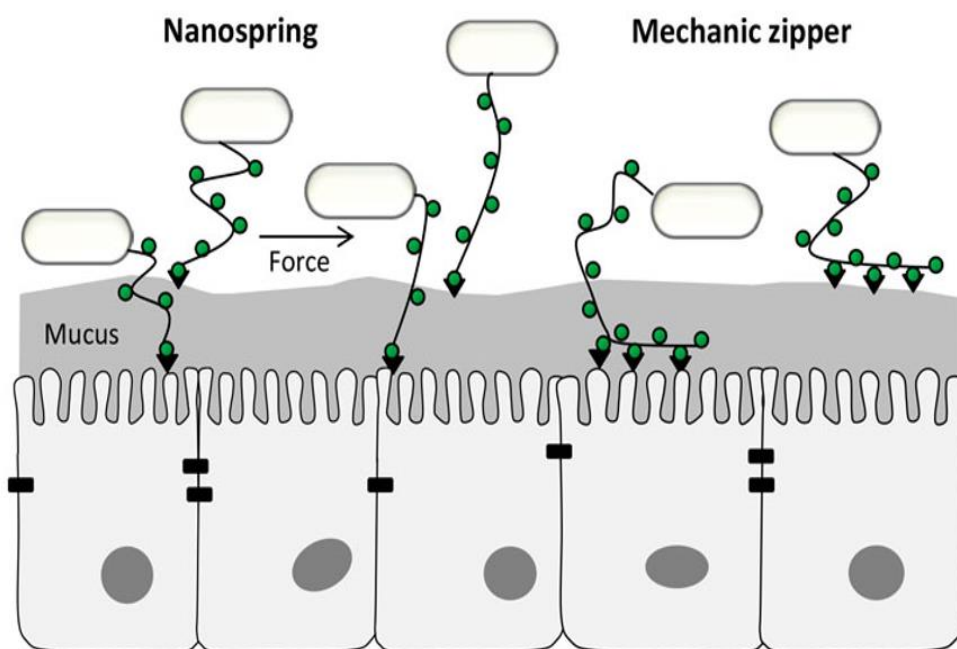
Dle jistých studií, které se zabývají skupinou LAB, hraje tento druh nejvýznamnější roli při snižování hladiny leukotrienu B4. Tato látka patří svojí strukturou mezi lipidy a je tvořena z kyseliny arachidonové. Účinkuje tak, že vyvolává alergie a pokud je produkována ve velkém množství, může být potenciálním karcinogenem (Kimoto – Nira et al., 2009).

Nejvýznamnější rolí tohoto druhu probiotika je ovlivňování imunitního systému daného hostitele. Bylo prokázáno, že ať už v samostatném působení či v kombinaci s jinými druhy *Lactobacillů*, má schopnost interagovat se a blahodárně působit na imunitní systém. Aplikace *L. helveticus* do mléčných výrobků mohou způsobit snížení exprese chemokinu (IL-8), který hraje významnou roli v zánětlivých procesech, a dále mohou zvyšovat množství buněk, které produkují imunoglobuliny typu A v lamina propria tenkého střeva. Fermentované mléko druhem *L. helveticus* obsahuje NBF (z angl. nucleotide binding fold), který je aktivátorem calcineurinu. Calcineurin je látka účastnící se regulace a homeostázy Ca^{2+} pumpy. Tato skutečnost dokazuje, že NBF chrání slizniční bariéru. Další výhodou podávání tohoto probiotického druhu je možné zvýšení hmotnosti a minerálů jako je draslík a vápník u prasat. Může také snižovat hladinu triglyceridů a zlepšovat hladiny antioxidantů (Taverniti et al., 2012).

3.8.4 *Lactobacillus rhamnosus* GG

Lactobacillus rhamnosus je nedílnou součástí probiotických bakterií a je jedním z nejprostudovanějších probiotik především díky tomu, že je znám jeho genetický kód. Byl poprvé izolován ze stolice dvou zdravých dospělých lidí, Sherwooda Gorbacha a Barryho Goldwina. Díky této skutečnosti se objevuje označení GG za druhovým jménem. Původně byl považován za součást druhu *L. casei*, avšak později díky molekulárně biologickým metodám byly zjištěny strukturální odlišnosti, a proto byl druh zařazen samostatně. Dle některých studií bylo prokázáno, že v případě jeho suplementace již v prenatálním, ale i v postnatálním období, způsobuje vyšší druhovou diverzitu probiotických mikroorganismů ve střevech. Podporuje i následnou kolonizaci *Bifidobakteriemi*, avšak tento mechanismus je předmětem dalších výzkumů. *Lactobacillus rhamnosus* GG hraje klíčovou roli při prevenci před infekcemi GIT a chorobami jako je novorozenecký průjem. Jeho výbornou vlastností je schopnost velmi dobře přilnout k buňkám střevní sliznice oproti jiným druhům *Lactobacillů*. Tato skutečnost byla dlouho studována a také prokázána u tzv. fimbrií, které byly později označeny názvem pili. Tyto přívěšky nesou na svém povrchu určité druhy grampozitivních i gramnegativních bakterií a mají za úkol pevné přilnutí hlenu na povrchu sliznice střeva. Tato skutečnost hraje klíčovou roli v účincích probiotik. Pili tvoří proteiny, které se skládají ze tří monomerů SpaA, SpaB a SpaC. Dohromady tvoří komplex SpaCBA. Geny kódující tyto tři podjednotky se vždy objevují ve stejném umístění na

chromozomu. Obsahují je i jiné druhy *Lactobacillů*, avšak pouze u druhu *L. rhamnosus* GG zůstávají ve stejné neporušené struktuře i při vystavení stresovým podmínkám, jako je nízké pH. To dokazuje vysokou odolnost a význam tohoto druhu. Další benefit druhu *L. rhamnosus* GG spočívá v interakci s hostitelskými buňkami. Umožňuje spojení formou zipu, jak je zřejmé z obrázku 5. Mimo schopnosti odolávat nízkému pH, je rezistentní vůči žlučovým enzymům a výborné růstové vlastnosti (Segers et al., 2014). *L. rhamnosus* GG může snižovat hladinu TNF – α , zejména u lidí s alergií na kravské mléko (Doron et al., 2005). Tento druh má výraznou inhibiční aktivitu proti kvasinkám rodu *Candida*, zejména druhu *C. glabrata*, způsobující velmi rozšířenou mykózu. Přestože tento druh patří mezi přirozeného obyvatele slizniční flóry, existuje více dokladů o možném jaterním abscesu (Singhi et al., 2016).



Obrázek 5 Mechanismus přilnutí *Lactobacillů* na epitel střevní sliznice (tzv. SpaCBA pili mechanismus) (Tripathi et al., 2013)

4 ZÁVĚR

Probiotické bakterie a jejich blahodárny vliv na zdraví a organismus lidí a prasat byl prokázán již velmi dávno. Doklad o posilování imunitního systému vlivem těchto mikroorganismů je také znám. Současný výzkum zahrnuje odhalování nových vlivů na daný organismus a popis přesných interakcí s jednotlivými buňkami v místě jejich působení.

Rod *Lactobacillus* je v dnešní době hojně používán v potravinářském i farmaceutickém průmyslu. Jednotlivé druhy se využívají k potlačení průjmů (novorozenecký, cestovatelský, či průjem způsobený užíváním antibiotik), způsobených mnoha nepříznivými vlivy. Inhibiční aktivita *Lactobacillů* v případě projevu alergických onemocnění byla také prokázána, stejně jako pozitivní vliv při závažném onemocnění jako je obezita.

Důležitým faktem je užívání probiotických bakterií preventivně, což posiluje obranyschopnost organismu.

Ačkoli je většina rodů probiotických bakterií považována za zdravotně nezávadné, je potřeba počítat i s možností nežádoucích účinků, a to zejména u jedinců, kteří jsou velmi fyzicky oslabeni a mají sníženou imunitu. Ve srovnání s blahodárnými účinky na lidské zdraví a imunitu jsou však tyto špatné účinky na hranici mizivé hodnoty.

Zájem o vysokou produkci a kvalitu masa prasat a zdravý životní styl u lidí je dnes velmi zajímavým a diskutovaným tématem, nicméně stoprocentní informovanost o této problematice není zcela dostačující.

Perspektiva využívání *Lactobacillů* i jiných probiotických kmenů nabývá významných hodnot pro zdravotní stav lidské a zvířecí populace. Důležitý je další výzkum a představení nových poznatků týkajících se interakcí probiotických bakterií v gastrointestinálním traktu.

5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANJUM N., SHABANA M., TARIQ M., ASIF A., ASMA S., ABDUL M., 2014: Lactobacillus acidophilus. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 54(9), 1241-1251. DOI: 10.1080/10408398.2011.621169. ISSN 1040-8398.

BÄUMLER A. J., SPERANDIO V., 2016: Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature*. 535(7610), 85-93. DOI: 10.1038/nature18849. ISSN 0028-0836.

BERNIACKOVÁ M., KAPOUNKOVÁ K., NOVOTNÝ J., VOMELA J., VOMELOVÁ N., 2014: *Fyziologie člověka pro studenty bakalářských oborů Tělesné výchovy*. Brno: Fakulta sportovních studií, Masarykova univerzita. ISBN 978-80-210-7697-6.

BELGUESMIA Y., DOMENGER D., CARON J., DHULSTER P., RAVALLEC R., DRIDER D., CUDENNEC B., 2016. Novel probiotic evidence of lactobacilli on immunomodulation and regulation of satiety hormones release in intestinal cells. *Journal of Functional Foods*. 24, 276-286. DOI: 10.1016/j.jff.2016.04.014. ISSN 17564646

BRANDT K, BARRANGOU R., 2016: *Frontiers in Microbiology*. 7. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00657. ISSN 1664 - 302x.

COEURET V., DUBERNET S., BERNARDEAU M., GUEGUEN M., PAUL J. V., 2003: Article. *Le Lait*. 83(4), 269-306. DOI: 10.1051/lait:2003019. ISSN 0023-7302.

COUVIGNY B., THÉRIAL C., GAUTIER C., RENAULT P., BRIANDET R., GUÉDON E., AL-AHMAD A., 2015: Streptococcus thermophilus Biofilm Formation: A Remnant Trait of Ancestral Commensal Life? *PLOS ONE*, 10(6), e0128099-. DOI: 10.1371/journal.pone.0128099. ISSN šilh1932-6203.

DAHROUD B. D., MOKARRAM R. R., KHIABANI M. S., HAMISHEHKAR H., BIALVAEI A. Z., YOUSEFI M., KAFIL H. S., 2016: Low intensity ultrasound increases the fermentation efficiency of Lactobacillus casei subsp.casei ATTC 39392. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 462-467. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.103. ISSN 01418130.

DORON S., SNYDMAN D. R., GORBACH S. L., 2005: Lactobacillus GG: Bacteriology and Clinical Applications. *Gastroenterology Clinics of North America* 34(3), 483-498. DOI: 10.1016/j.gtc.2005.05.011. ISSN 08898553.

FRYČ P., Střevní mikroflóra, gastrointestinální ekosystém a probiotika, *Medicína pro praxi* [online]., Praha 2010 [cit. 2017-1-4]. dostupné z: www.medicinapropraxi.cz

GIBSON G. R., ROBERFROID M. B., 1995: "Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics," *Journal of Nutrition*, vol. 125, no. 6, pp. 1401–1412.

HENNING CH., DHIRAJ G. D., MURIANA P., 2015: Identification of Multiple Bacteriocins in *Enterococcus* spp. Using an *Enterococcus*-Specific Bacteriocin PCR Array. *Microorganisms*, 3(1): 1–16.

ISOLAURI E., SÜTAS Y., KANKAANPÄÄ P., ARVILOMMI H., SALMINEN S., 2001: *Probiotics: effects on immunity*. The American Journal of Clinical Nutrition.

JELÍNEK P., KOUDELA K., 2003: *Fyziologie hospodářských zvířat*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-715-7644-1.

JIANG Y., LU X., MAN C., et al. 2012: Lactobacillus acidophilus Induces Cytokine and Chemokine Production via NF- κ B and p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling Pathways in Intestinal Epithelial Cells. *Clinical and Vaccine Immunology*. 19(4), 603-608. DOI: 10.1128/CVI.05617-11. ISSN 1556-6811.

JU-HOON L., O'Sullivan D.J., 2010: Genomic Insights into Bifidobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74,38. doi: 10.1128/MMBR.00004-10

KAILA M., ISOLAURI E., SOPPI E., VIRLANEN E., LAINE S., ARVILOMMI H., 1992: Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhoea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr. Res.* 32:141–144.

KARIMI G., SABRAN M. R., JAMALUDDIN R., PARVANEH K., MOHTARRUDIN N., AHMAD Z., KHAZAAI H., KHODAVANDI A., 2015: The anti-obesity effects of Lactobacillus casei strain Shirota versus Orlistat on high fat diet-induced obese rats. *Food*. 59(1), 29273-. DOI: 10.3402/fnr.v59.29273. ISSN 1654-6628.

KEKKONEN R., 2008: *Immunomodulatory Effects of Probiotic Bacteria In Healthy Adults*. Helsinki, ISBN 978-952-10-4699-5.

KIMOTO – NIRA H., SUZUKI C., KOBAYASHI M., SASAKI K., MIZUMACHI, K., 2009: Inhibition of leukotriene B4 production in murine macrophages by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* 129, 321–324.

KITAZAWA H., VILLENA J., 2014: *Probiotics : Immunobiotics and Immunogenics*. Boca Raton, FL. ISBN 978-1-4822-0685-2, 978-1-4822-0684-5.

KNOFLÍČEK M., 2005: Náhrada za antibiotika. *Náš chov*. Dostupné z: <http://nas-chov.cz/nahrada-za-antibiotika/>

KREJSEK J., 2012: Prebiotika, probiotika a imunitní systém *Potravinářská revue: odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod*. Praha: Agral, ISSN 1801-9102

MADSEN K., CORNISH A., SOPER P., MCKAIGNEY C., JIJON H., YACHIMEC C., et al. 2001: Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology*; 121:580-91.

MATSUMOTO S., HARA T., HORI T., MITSUYAMA K., NAGAOKA M., TOMIYASU N., SUZUKI A., SATA M. 2005: Probiotic *Lactobacillus*-induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of pro-inflammatory cytokines in lamina propria mononuclear cells. *Clinical and Experimental Immunology*. 140(3), 417-426. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02790.x. ISSN 0009-9104.

MCFARLAND L. V., 2010: Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. *World Journal of Gastroenterology*. 16(18), 2202-. DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2202. ISSN 1007-9327.

MOKROZUB V. V., LAZARENKO L. M., SICHEL L. M., et al., 2015: The role of beneficial bacteria wall elasticity in regulating innate immune response. *EPMA Journal*. 6(1), DOI: 10.1186/s13167-015-0035-1. ISSN 1878-5077.

RADA V., 2009: Využití probiotik, probiotik a synbiotik, Aktuálně z interní medicíny. *SOLEN Medical education*.

RADA V., MAROUNEK M., Praha 2005: Probiotika a prebiotika. *Výzkumný ústav živočišné výroby*.

RAJPUT I., WF L., 2012: Potential role of probiotics in mechanism of intestinal immunity Pak Vet J, 32(3): 303-308.

SEGERS M. E., LEBEER S., 2014: *Towards a better understanding of Lactobacillus rhamnosus GG - host interactions*. DOI: 10.1186/1475-2859-13-S1-S7. ISBN 10.1186/1475-2859-13-S1-S7.

SCHIFFRIN E. J., ROCHAT F., LINK-AMSTER H., AESCHLIMANN J. M., DONNET-HUGHES A., 1995: Immunomodulation of Human Blood Cells Following the Ingestion of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Dairy Science*, 78(3), 491-497. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76659-0. ISSN 00220302.

SCHINDLER J., 2010: *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, Sestra (Grada) s. 66-74 ISBN 978-80-247-3170-4.

SINGHI S. C., KUMAR S., 2016: Probiotics in critically ill children. *F1000Research*, 5, 407- DOI: 10.12688/f1000research.7630.1. ISSN 2046-1402.

ŠILHÁNKOVÁ L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia, s. 65-69. ISBN 80-200-1024-6.

SOCCOL C. R., VANDENBERGHE S., SPIER L. P., MEDEIROS M. R., YAMAGISHI A. B. P., LINDNER C. T., PANDEY J. D. D., SOCCOL A., 2010: The potential of probiotics: A review. *Food Technology and Biotechnology*, 48, 413–434.

ŠVÍGLEROVÁ J., SLAVÍKOVÁ J., 2013: *Fyziologie gastrointestinálního traktu*. 2., upr. vyd. Praha: Karolinum, ISBN 978-80-246-2189-0.

TANNOCK G., 2014: *Bifidobacterium brevis*. *Microbiology & Immunology University Otago*. [cit. 2017-03-25] Dostupné z: <https://micro.otago.ac.nz/our-people-2/our-people/gerald-tannock/>

TAVERNITI V., GUGLIELMETTI S., 2012: Health-Promoting Properties of Lactobacillus helveticus. *Frontiers in Microbiology* 3, DOI: 10.3389/fmicb.2012.00392. ISSN 1664-302x.

TOMAN M. et al., 2000: *Veterinární imunologie*. Praha: Grada, 2000. ISBN 80-716-9727-3.

TRIPATHI P., BEAUSSART A., ALSTEENS D., et al. 2013: Adhesion and Nanomechanics of Pili from the Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG. *ACS Nano*, 7(4) DOI: 10.1021/nm400705u. ISSN 1936-0851.

VÁCLAVKOVÁ E., LUSTYKOVÁ A., 2011: Probiotika ve výživě prasat, *Krmivářství*. Dostupné z: www.agroveb.cz. [cit. 2017-2-18].

VINDEROLA G., MATAR CH., 2007: Milk fermentation products of L. helveticus R389 activate calcineurin as a signal to promote gut mucosal immunity. *BMC Immunology*, 8(1), 19-. DOI: 10.1186/1471-2172-8-19. ISSN 14712172.

VOTAVA M., BROUKAL Z., VANĚK J., 2007: *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře*. Brno: Neptun. ISBN 978-80-86850-03-0.

Vrstvy stěny tenkého střeva. *Pearson education* [online]. 2011 [cit. 2017-03-06]. Dostupné z: <http://www2.highlands.edu/academics/divisions/scipe/biology/faculty/harnden/2122/images/intestinewall.jpg>

WANG Z., 2014: Intestinal microbiota pathogenesis and fecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*. 20(40), 14805- DOI: 10.3748/wjg.v20.i40.14805. ISSN 1007-9327.

WEISS G., RASMUSSEN S., HJERRILD L., et al. 2010: Lactobacillus acidophilus induces virus immune defence genes in murine dendritic cells by a Toll-like receptor-2-dependent mechanism. *Immunology*. 131(2), 268-281 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2010.03301.x. ISSN 00192805.

6 SEZNAM ZKRATEK

CCL2 – chemokin CCL2

CFU – colony – forming units

GALT – gut – associated lymphoid tissue

GIT – gastrointestinální trakt

IFN – γ – interferon – γ

IL – 1 β – Interleukin – 1 beta

IL – 6 – Interleukin – 6

LAB – lactic acid bacteria

MAMPs – microbe – associated molecular patterns

NBF – nucleotide binding fold

NEC – necrotizing enterokolitis

PAMPs – pathogen – associated molecular patterns

TLR – 2 – toll like receptor – 2

TNF – α – tumor necrosis factor alfa

7 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Snímek Bifidobakteriálních buněk z elektronového mikroskopu (Tannock, 2014).....	13
Obrázek 2 Snímek Lactobacillů z elektronového mikroskopu C – Lactobacillus acidophilus, D – Lactobacillus casei (Mokrozub et al., 2015)	16
Obrázek 3 Stavba střevní stěny (Pearson Education, 2011).....	17
Obrázek 4 Možný mechanismus účinku probiotických bakterií a reakce střevních buněk (Kekkonen, 2008)	22
Obrázek 5 Mechanismus přilnutí Lactobacillů na epitel střevní sliznice (tzv. SpaCBA pili mechanismus) (Tripathi et al., 2013)	27