Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů

Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů

Vliv probiotik na kognitivní schopnosti

Diplomová práce

Bc. Klára Sekvardová
Výživa zvířat a dietetika

Ing. Milena Santariová, Ph.D.

© 2022 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv probiotik na kognitivní schopnosti psa" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího 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 14.4.2022 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce Ing. Mileně Santariové, Ph.D. za trpělivost a odborné rady. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Peteru Mikulovi Ph.D. za odborné rady a v neposlední řadě svému parterovi Jáchymovi Doubkovi za obětavost a trpělivost, kterou mi prokazoval během mého studia a sepisování této diplomové práce.

Vliv probiotik na kognitivní schopnosti psa

Souhrn

Nové poznatky ukazují, že funkce střevního biomu zdaleka nesouvisí nejen s trávicími procesy, ale i s procesy neurofyziologickými. Narušení složení „zdravé“ skladby střevní mikroflóry může souviset se vznikem různých nežádoucích psychických poruch, což bylo prokázáno u lidí i zvířat. U psů stejně jako u lidí dochází stárnutím nebo stresem k projevům neurodegerativních onemocnění. Ty bývají nejčastěji spojovány se zhoršením paměti. Zhoršení paměti může být omezující především pro služební psy (asistenční psy, psi záchranáři, policejní psy). Pro ně je dobrá pameť a zdraví hlavním kritériem výkonu práce.

Dle relativně nedávných výzkumů se jako vhodná suplementace k podpoření kognitivních funkcí jeví probiotika. Byl prokázán jejich nesporný efekt na snižování projevů úzkosti a deprese, ale také účinky na zlepšování paměti. Ačkoliv existuje rozsáhlý výzkum v této oblasti, týká se převážně lidí, případně byl realizován na hlodavcích. Poznatků týkajících se střevního mikrobiomu psů a jeho vlivu na kognitivní funkce mozku je stále nedostatek.

V této práci byl testován vliv probiotik (*Enterococcus faeceum*), na rozhodovací schopnosti a krátkodobou paměť psů. Pro ověření účinku probiotik byl navržen jednoduchý paměťový test. V experimentu bylo použito 18 psů různých plemen, různého věku a pohlaví. Přičemž experiment dokončilo 15 psů. Psi byli rozděleni do dvou skupin, kontrolní skupině bylo podáváno placebo a experimentální skupina užívala probiotika.

Hypotéza, že psi, kteří budou po určitou dobu užívat probiotika budou úspěšnější než skupina psů užívající placebo, nebyla prokázána. Mezi možnými faktory, které ovlivňily nepotvrzení hypotézy, mohou být uvedeny malá skupina testovaných psů, krátká doba užívání probiotik nebo nevhodně zvolený druh probiotik.

Klíčová slova: mikrobiota, pes domácí, paměť, neurodegenerativní onemocnění, probiotika

Effect of probiotics on cognitive funktion of dog

Summary

New findings show that the function of the gut biome is far from being related to digestive processes, but also to neurophysiological processes. Disruption of the composition of a "healthy" gut microbiota may be related to the development of various adverse psychological disorders, which has been demonstrated in both humans and animals. In dogs, as in humans, aging or stress leads to the manifestation of neurodegenerative diseases. These are most commonly associated with memory impairment. Memory impairment can be particularly limiting for service dogs (assistance dogs, rescue dogs, police dogs). For these, good memory and health are the main criteria for job performance.

According to relatively recent research, probiotics appear to be an appropriate supplementation to stimulate cognitive function. Their undeniable effect on reducing symptoms of anxiety and depression, as well as effects on improving memory, has been demonstrated. Although there has been extensive research in this area, it has mainly concerned humans or has been carried out on rodents. There is still a deficit of knowledge regarding the gut microbiome of dogs and its effect on cognitive brain function.

In this work, the effect of probiotics (Enterococcus faeceum), on decision-making abilities and short-term memory of dogs was tested. A simple memory test was designed to test the effect of probiotics. Eighteen dogs of different breeds, age and sex were used in the experiment. 15 dogs has completed the experiment. The dogs were divided into two groups, the control group was given placebo and the experimental group took probiotics.

The hypothesis that dogs taking probiotics for a certain period of time would be more successful than the group of dogs taking placebo was not proven. Possible reasons for this result are e.g. a small group of test dogs, a short period of probiotic use, inappropriately chosen probiotics, etc.

Keywords: microbiota, domestic dog, memory, neurodegenerativ diseases, probiotics

Obsah

1 Úvod 7

2 Vědecká hypotéza a cíle práce 9

3 Literární rešerše 10

3.1 Mikrobiota 10

3.1.1 Mikrobiota psů 12

3.2 Probiotika 14

3.3 Mechanismus působení probiotik 15

3.4 Doplňkové látky v probioticích 16

3.5 Využití probiotik u psů 17

3.6 Vliv mikrobioty na cetralní nervovou soustavu 17

3.6.1 Látky produkované bakteriemi 19

3.6.2 Vliv mikrobioty na kognitivní schopnosti 21

3.7 Vliv neurodegenerativních onemocnění a stresu na kognitivní schopnosti . 23

3.8 Vliv probiotik na kognitivní schopnosti 23

4 Metodika 26

4.1 Subjekty 26

4.2 Materiály 28

4.2.1 Probiotika 28

4.2.2 Placebo 28

4.3 Schéma testu 29

4.3.1 První fáze 29

4.3.2 Druhá fáze 30

4.3.3 Třetí fáze 30

4.4 Natáčení 30

4.5 Statistická analýza dat 30

5 Výsledky 32

6 Diskuze 35

7 Závěr 39

8 Literatura 40

9 Seznam použitých zkratek a symbolů 51

1 Úvod

Vlivu střevní mikrobioty na centrální nervovou soustavu se vědci věnovali již v době před 100 lety. Hlavní pozornost výzkumu v této problematice se soustředila především na duševní choroby. V této době se razila teorie, že příčinou duševních onemocnění jsou špatné střevní bakterie a hniloba ve střevech. Léčba těchto onemocnění však spočívala v tom, že pacientům bylo odstraněno tlusté střevo. Úspěšnost těchto operací byla minimální (Tredgold 1922). Probiotika se dostala do povědomí až o několik let později, kdy se lidé pokoušeli o léčbu střevní hniloby pomocí změny stravovacího režimu spojeného s užíváním probiotik. Léčba se zdála úspěšná, ale vědci nemohli s jistotou označit, zda za zlepšený emocionální stav lidí mohou probiotika, nebo spíše čistě vegetariánská strava (Julianelle et Ebaugh 1923). Po následujících skoro 100 let zůstala tato problematika téměř bez povšimnutí, a až nyní se jí začíná věnovat stále větší množství výzkumů. V dnešní době už víme, že střevní mikrobiota dokáže interagovat s organismem pomocí obousměrného souboru imunitních, endokrinních a neurálních signálních drah, označovaných jako „Osa střevo-mozek“ (Marie Kosiewicz et al. 2017). Vědci znovu navázali na výzkum probiotik a jejich schopnosti ovlivnit naši centrální nervovou soustavu. V dnešní době existuje několik studií potvrzujících, že probiotika mají pozitivní vliv na léčbu deprese, úzkosti a stavy agrese u lidí i zvířat (Rao et al. 2009; Messaoudi et al. 2011; H. Wang et al., 2016).

V posledních letech se objevují teorie, že probiotika neovlivňují pouze stavy úzkosti nebo deprese, ale že by mohla mít pozitivní vliv také na paměť. Výzkumu paměti je z vědeckého hlediska věnována pozornost již dlouhá léta. V posledním století bylo zveřejněno mnoho nových poznatků vedoucích k porozumění, jak paměť funguje u lidí i zvířat(Wang et al. 2016).

V současnosti není věnována pozornost v tomto oboru pouze lidem, ale čím dál více se zaměřuje i na zvířata. Jako modelový organismus pro výzkumy mikrobioty jsou nejčastěji využívaná typická labarotorní zvířata, jako jsou myši nebo potkani. Psi pro tento účel většinou nejsou vyhledáváni. Psi se přitom ukazují jako mnohem vhodnější model pro výzkum mikrobioty. Mimo jiné díky jejich podobnosti psí mikrobioty s lidskou. To je zřejmě ovlivněno tím, že s námi sdílí stejné prostředí už po tisíce let. Ohledně jejich domestikace existuje několik teorií. Kosterní nálezy svědčí o počátcích domestikace před 10 – 12 000 lety. Genetické nálezy však spekulují i o 100 tisících let společného soužití (Císařovský 2008). Stále více lidí věnuje pozornost zdraví a pohodě svých domácích zvířat, zejména psů. Nejsou pro nás vždy ale jen domácí mazlíčci. Čím dál tím častěji se můžeme setkávat s jejich využitím v nejrůznějších profesích. Využívají se ať už jako psi asistenční, pro nevidomé nebo tělesně postižené, přes policejní psy, sloužící k vyhledávání drog, nebezpečných látek, nebo podezřelých osob, až po psy „záchranáře“, pátrající např. po obětech živelných katastrof. Základním předpokladem pro to, aby se mohli stát pracovními psy, je dobrá paměť a zdraví. Tyto predispozice jsou často přisuzovány konkrétním plemenům; pro policejního psa např. typicky německý ovčák nebo labradorský retrívr jako asistenční pes.

U psů, stejně jako u lidí, dochází vlivem stárnutí ke zhoršování kognitivních funkcí. Stárnutí nebo nemoc psa může mít negativní vliv právě na paměť a na schopnost v pozdějším věku vykonávat práci, pro kterou byl vycvičen. Psi mohou mít také životem v našem prostředí poškozenou skladbu střevní mikroflóry, ať už nevhodnou stravou nebo podáváním antibiotik, což by mohlo vést ke zhoršení kognitivních schopností. Naše pozornost by se proto měla ubírat i tímto směrem, ať už nám půjde o zlepšení životních podmínek a snaha o prodloužení a zkvalitnění vykonávání práce služebních psů nebo o stejně tak důležité zlepšení péče o domácí zvířata.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Cílem práce je posouzení účinku probiotik na kognitivní schopnosti psů. Zhodnocení vlivu na schopnost rozhodování a zlepšení kratkodobé paměti.

Hypotéza: Psi, kterým budou po stanovené období podávána probiotika, budou úspěšnější v testu krátkodobé paměti než psi, kterým probiotika podávána nebudou.

3 Literární rešerše

3.1 Mikrobiota

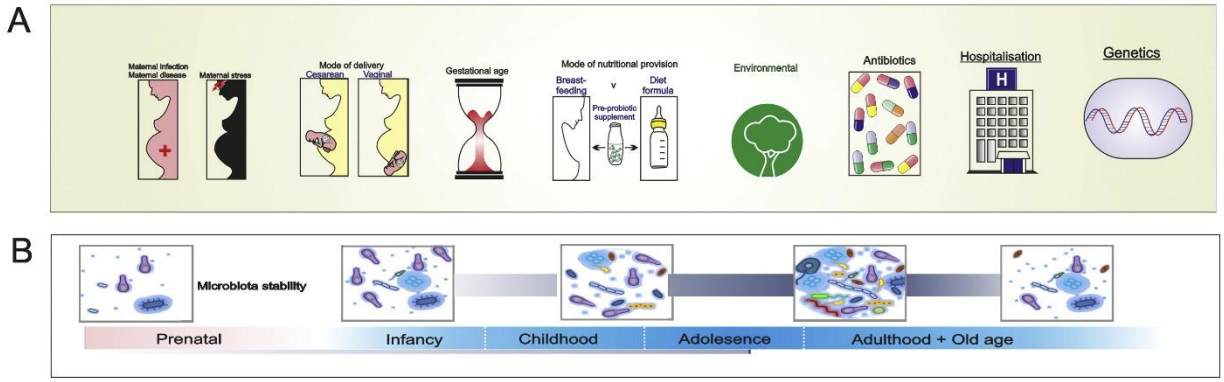
Gastrointestinální trakt zvířat i lidí obsahuje různé typy mikroorganismů známých jako gastrointestinální mikrobiota. Biliony mikrobů osidlují střevo a vytvářejí komplexní společenství, které prostřednictvím svých kolektivních metabolických aktivit a interakcí s hostitelem ovlivňují normální fyziologickou funkci a náchylnost k nemocem (Lozupone et al. 2012). Každý jedinec má jedinečný profil střevní mikroflóry. Gastrointestinální mikrobiota zahrnuje členy všech tří hlavních životních domén (Archea, Bacteria a Eukaryotes), přičemž bakterie jsou nejhojnější a metabolicky aktivní skupinou mikroorganismů (Garcia-Mazcorro et Minamoto 2013). U lidí je zastoupeno pouze několik kmenů bakterií. Dominantní kmeny jsou Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria a Verrucomicrobia, přičemž 90 % střevní mikroflory představují kmeny Firmicutes a Bacteroidetes. Kmen Firmicutes se skládá z více než 200 různých rodů. Nejvíce zastoupené jsou *Lactobacillus, Bacillus, Clostridium, Enterococcus, Ruminococcus*. U kmene Bacteroides převládají rody, jako jsou *Bacteroides* a *Prevotella*. Actinobacteria je procentuálně hojná méně a je především zastoupena rodem *Bifidobacterium* (Rinninella et al. 2019).

Střevní mikrobiota každého jedince je specificky charakterizována shluky bakterií zvaných enterotypy. Podle toho, které mikroorganismy jsou převládající můžeme rozlišit dva enterotypy mikrobiomu osídlujícího lidský organismus: Bacteroides a Prevotella. Enterotypy jsou silně spojeny s dlouhodobými stravovacími návyky (Wu et al. 2011). Charakteristické shluky bakterií mají příslušné funkční vlastnosti a jsou definovány charakteristickým způsobem výroby energie z fermentovaných substrátů dostupných v tlustém střevě. Enterotyp s převažujícím obsahem Prevotella získávají energii primárně ze saharidů pomocí glykolýzy, zatímco u Bacteroides je energie získávána hlavně z bílkovin a živočišných tuků (Rinninella et al. 2019).

Mikrobiom je možné změnit během 24 hodin důsledkem příjmu potravy s vysokým obsahem tuku a nízkým obsahem vlákniny nebo s nízkým obsahem tuku a vysokým obsahem vlákniny. Identita enterotypu však v krátkodobém měřítku zůstává stabilní. Studie prokazují, že rozdělení enterotypů je spojeno s dlohodobým způsobem stravování
(Wu et al. 2011).

Mikrobiota je ovlivňována již v prenatálním období. Během těhotenství řídí budoucí imunitní zrání střeva novorozence bakterie ze střeva matky průchodem rozpustných molekul z placenty (Drago et al. 2019). V raném věku je pak mikrobiota utvářena dozráváním střeva, které se vyvíjí v souvislosti s gestačním věkem při narození, typem porodu, metodou kojení, způsobem odstavu (Rinninella et al. 2019). K relativní stabilitě ve složení střevní mikrobioty dochází v období mezi 2. – 3. rokem stáří dítěte. Bohatost a rozmanitost střevní mikrobioty formované v raném věku charakterizuje složení střevní mikrobioty.

Optimální složení je však u každého jedince odlišné a může být dále ovlivňováno různými vlivy jako například životním stylem, stravovacími a kulturními návyky, indexem tělesné hmotnosti (BMI), frekvencí cvičení. Dalšími faktory, které mohou, v kterékoliv fázi života, upravit střevní mikroflóru, jsou nespavost, narušení cirkadiálnního rytmu, užívání antibiotik, sourozenci v domácnosti a společenská zvířata (Drago et al. 2019).



Obrázek 1 A) faktory ovlivňující mikrobiotu, zleva: prenatální období, ovlivnění bakteriemi ze střeva matky, způsob porodu, gestační věk, způsob kojení, prostředí, antibiotika, prodělané nemoci, genetika B) různorodost a množství mikrobioty v průběhu života (O´mahony et al 2015)

Zdravá střevní mikroflóra má v organismu mnoho zásadních funkcí. Podílí se na správném vývoji a fungování imunitního systému (Patterson et al. 2014), zachování strukturní integrity střevní slizniční bariéry (Rinninella et al. 2019), chrání před enteropatogeny (Lozupone et al. 2012). Pomáhá při trávení a při výrobě zdraví prospěšných bioaktivních metabolitů. Mezi ně patří bioaktivní lipidy, antimikrobiální látky, vitamíny B a K (Patterson et al. 2014).

Rovnováha mezi hostitelem a mikroorganismy musí být respektována, aby bylo možné optimálně vykonávat metabolické a imunitní funkce a předcházet rozvoji onemocnění. Dysbióza střevní mikroflóry je spojena nejen s poruchami střev, ale také s mnoha extraintestinálními chorobami, jako jsou metabolické a neurologické poruchy (Rinninella et al. 2019). Objevují se důkazy o mikrobiálně produkovaných molekulách s neuroaktivními funkcemi, které mohou mít vliv přes osu střevo – mozek. Například, kyselina γ-aminomáselná, serotonin, katecholaminy a acetylcholin, mohou při uvolnění ve střevním lumenu modulovat nervovou signalizaci v enterickém nervovém systému a následně signalizovat funkci a chování mozku (Patterson et al. 2014). Alterace střevní mikrobiální struktury, je úzce spojena s vývojem střevních chronických onemocnění souvisejících se zánětem, jako je zánětlivé onemocnění střev (IBD), a dokonce i s infekčními chorobami včetně bakteriových a virových infekcí (He et al. 2021).

Mikrobiota každého jedince má určitou odolnost vůči narušení. Rezistenci můžeme ovlivnit pomocí terapie: změnou složení mikrobioty prostřednictvím stravy, léků, prebiotik nebo probiotik. Úspěch má i transplantace kolonií mikroorganismů u potkanů a lidí s onemocněním CDAD (Clostridium difficile associated diarrhea – Kolitida vyvolaná *Clostridium difficille*) (Lozupone et al. 2012).

3.1.1 Mikrobiota psů

Gastrointestinální mikrobiota psa domácího *Canis lupus familiaris* (Linnaeus, 1758) je stejně jako u lidí důležitá a účastní se mnoha fyziologických procesů, které ovlivňují zdraví hostitele. Je stejně složitá a klíčová jako mikrobiota přítomná u lidí a jiných zvířat (Garcia-Mazcorro & Minamoto 2013). Mikrobiom se skládá z bakterí, archea, virů a eukaryotických organismů. Bakteriální složka je největší a poskytuje základní funce GIT, jako je fermentace vláken. Střevní mikrobiom dále přispívá k metabolismu hostitele, podpoře imunitního systému nebo ochraně před patogeny. Další výzkumy ukazují existenci propojení trávicí soustavy s jinými orgány osou střevo – mozek nebo střevo – kůže (Pilla & Suchodolski 2021). Stejně jako u lidí i psů se objevují poruchy střevní mikrobioty, nazývané střevní dysbióza, které jsou pozorovány u onemocnění, jako je zánět střev, infekce, rakoviny tlustého střeva a potravinových alergií. (Zeng et al. 2017).

V částech gastrointestinálního traktu existují rozdíly ve složení mikrobiomu. Žaludek osidluje především *Helicobacterspp*., což u psů může znamenat až 98 % mikrobioty žaludku. Tenké střevo obsahuje zástupce nejméně pěti bakteriálních kmenů. Dominují zde Firmimicutes a Bacteroidetes. V tlustém střevě je mikrobiota nejhojnější - odhaduje se až 10^{11} bakteriálních buněk na gram obsahu střeva (Garcia-Mazcorro & Minamoto 2013). Klíčové bakteriální druhy jsou trvale přítomny ve vzorcích stolice zdravých psů, což naznačuje přítomnost základního bakteriálního společenství stolice. Některé z nejdůležitějších bakteriálních taxonů ukazuje *Tabulka 1* (Pilla & Suchodolski 2021).

Kmen	Třída	Čeleď	Rod/druh
Aktinobakterie	**Coriobacteriia**	**Coriobacteriaceae**	***Collinsella***
Bacteroidetes	**Bacteroidetes**	**Prevotellaceae**	***Prevotella***
		Bacteroidaceae	***Bacteroides***
Firmicutes	**Clostridia**	**Clostridiaceae**	***Clostridium***
		Ruminococcaceae	***Feacalibacterium prausnitzii***
	Bacilli	**Streptococcaceae**	***Streptococcus***
		Lactobacillaceae	***Lactobacillus***
Fusobacterie	**Fusobakterie**	**Fusobacteriaceae**	***Fusobacterium***
Proteobacterie	**Betaproteobakterie**	**Alcaligenaceae**	***Sutterella***
	Gammaproteobakterie	**Enterobacteriaceae**	***E-coli***

Tabulka 1 Ve fekálním mikrobiomu zdravých psů dominují 3 kmeny: Firmicutes, Bacteriodetes a Fusobacteriem. V této základní bakteriální komunitě patří mnoho taxonů do kmene Firmicutes, včetně Clostridia a Bacilli, z nichž mnozí jsou výrobci SCFA, jako je Faecalibacterium. Bacteroidetes je další hojný kmen ve vzorcích stolice psů, včetně Prevotella a Bacteroides, jejichž množství je mezi psy velmi variabilní (Pilla & Suchdolski 2021) Klikněte nebo klepněte sem a zadejte text.

Proteobacterie a aktinobacterie jsou kolonizátoři tenkého střeva a za fyziologických podmínek se vyskytují v menším počtu (Pilla & Suchodolski 2021). Ale v případě zvýšeného množství fakultativně anaerobních bakterií z čeledi Enterobacteriaceae, které spadají do kmene Proteobacterie, se jedná o charakteristický znak dysbiózy mikrobioty (Zeng et al. 2017). Se zdravím psů je obvykle spojován rod *Fusobacterium* (Pilla & Suchodolski 2021). Na rozdíl od lidí, kde *Fusobacterium nucleatum* je spojován s patogenem kolorektálního karcinomu (Amitay et al. 2017). U psů jsou pozorovány jiné

druhy, jako je *Fusobacterium mortiferum* nebo *Fusobacterium perfoetens* a hrají pravděpodobně jinou roli než u lidí (Kim et al. 2019). Fusobakterie jsou ovliňovány gastrointesinálními nemocemi, a proto by mohli být terapeutickým cílem, který by vedl k jejich vyšší hojnosti (Polizopoulou et al. 2020)

Změny nebo nerovnováha v mikroflóře ovlivňují imunitní funkci a souvisí s onemocněními gastrointestinálního traktu (Polizopoulou et al. 2020). Mikrobiotu tak můžeme pozitivně ovlivnit například probiotiky, díky kterým dochází k posílení imunitní bariéry, regulaci stavu střevní imunity, inhibici aktivity patogeních enzymů nebo „přeprogramování" střevního mikrobiálního složení (Ding et al. 2020). Dále také prospěšnou změnou stravy, prebiotiky (Pilla et Suchodolski 2021) nebo transplantací fekální mikroflóry (Polizopoulou et al. 2020).

3.2 Probiotika

Probiotika jsou definována jako životaschopná mono– nebo smíšená kultura mikroorganismů, která, pokud se aplikuje zvířeti nebo člověku, příznivě ovlivňuje hostitele zlepšením vlastností původní mikroflóry (Havenaar et al. 1992). Do těla se dostávají v různém množství splečně s potravou (Frej & Kuchař, 2016). První zmíňky o probiotikách se přisuzují Mečnikovi, který byl ruský přírodovědec. Byl jedním ze zakladatelů evoluční embryologie a objevitel fagocytózy. Také je držitelem Nobelovy ceny za medicínu a fyziologii, kterou získal za výzkum imunitního systému. Mečnikov doporučoval požití laktobacilů pro zlepšení zdraví (Gordon, 2008). Před více než sto lety se domníval, že lze zdraví ovlivnit pomocí bakterií nalezených v jogurtu (Mackowiak, 2013). V dnešní době jsou již nejrůznější studie o pozitivním vlivu probiotik na zdraví. V posledních letech je pozornost věnována i vlivu probiotik na centrální nervovou soustavu (Collins et al. 2012).

Frej a Kuchař (2016) uvádějí bakterie, které mají probiotické účinky. Bakterie mléčného kvašení: *Bifidobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus a Streptococcus*. Dále kvasinky rodů *Sacharomyces, Torulopsis* a také velmi důležité mikroorganismy žijící přímo v půdě, které se nacházejí v tradiční a paleolitické stravě, skládající se pouze z potravin, které nejsou dotčené moderním zemědělstvím (mléčné výrobky, obiloviny, luštěniny…): skupina bakterií *Bacillus*, především *B. brevis, B.macerans, B. pumilus, B. Polymyx a nebo B. Subtilus*.

Probiotika se obvykle skládají z nepatogenních bakterií, které jsou již obsaženy v trávicím systému hostitele, a proto jsou považovány za bezpečné. Probiotické mikroorganismy by měly být schopny přežít průchod trávicím traktem, a zároveň by měly mít schopnost proliferace ve střevě (Mantegazza et al. 2018). Probiotické mikroby mohou s hostitelem a jinými mikroby interagovat různými způsoby. Účinky mohou být specifické pro určitý kmen, ale pro hostitele to nemusí nutně znamenat pouze jeden zdravotní přínos (Reid 2016). Byla prokázána řada mechanismů působení probiotik, přičemž geneticky odlišné bakteriální kmeny mají funkčně rozdílné účinky. Kmen *Lactobacillus reuteri* SD2112

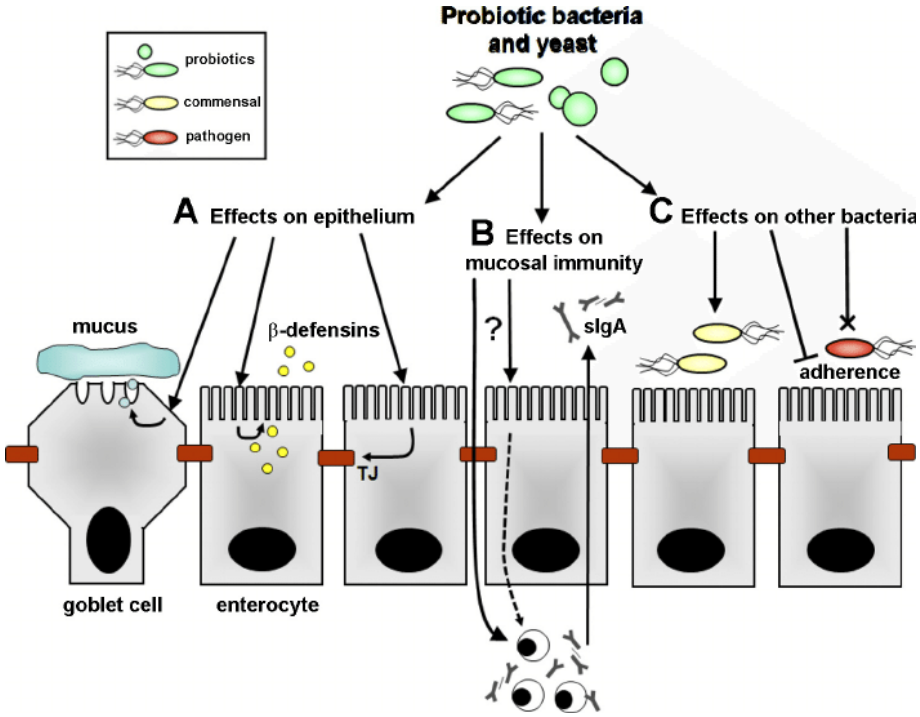
(ATCC 55730), který produkuje antimikrobiální látku reutin, je považován za důležitý pro inhibici patogenů ve střevě (Langa et al. 2014). A oproti tomu *Lactobacillus reuteri* RC-14 produkující biologicky povrchově aktivní látky, které inhibují připojení uropatogenů (Reid 2016).

Jako obecné výhody probiotik lze považovat podporu mechanismů vytvářejících příznivé střevní prostředí a podporující zdravý zažívací trakt a imunitní systém (Hill et al. 2014). Zajímavým aspektem některých probiotických kmenů je schopnost vyvolat účinky vzdálené od místa podání. K tomu může dojít přenosem organismů, produkcí molekul, které jsou absorbovány přes střevo, nebo přímým ovlivněním sloučenin hostitele (Reid 2016). Jako příklad může být uvedeno, že některá probiotika jsou schopna odstraňovat kyselinu deoxycholovou ve střevě, díky čemu může docházet ke snížení cholesterolu (Guo et al. 2012). Jiné probiotické kmeny mohou snížit závažnost a trvání respiračních onemocnění, pravděpodobně zvýšeným zprostředkováním imunitních mediátorů (Hao et al. 2015). Dalším místem, které mohou probiotika pozitivně ovlivnit, je mozek. Buď pomocí produkce molekul, neurochemikálií (Lyte 2011), nebo stimulací hostitele k jejich produkci a následného dopravení do mozku přes nervus vagus (Forsythe et al. 2014). Ukazuje se, že změna střevní mikrobioty prostřednictvím transplantace nebo podáváním kmenů probiotik, produkujících specifické faktory, může změnit nejen náladu a paměť, ale také ovlivnit to, co jíme a kdy a jakou rychlostí dochází k patologickým změnám (Reid 2016).

3.3 Mechanismus působení probiotik

Jako probiotika se využívají nejrůznější mikroorganismy, proto může být mechanismus působení rozmanitý. Další faktory, které mohou mechanismus ovlivnit, jsou živočišný druh, stáří nebo fyziologický stav příjemce (Drago et al 2019)

Většina probiotických účinků pravděpodobně nesouvisí pouze se změnou střevní mikrobioty. Mezi důležitou část příznivých účinků patří imunomodulační účinky, imunitní a protizánětlivá aktivita (Isolauri et al. 2004). Probiotika mohou pomáhat také při prevenci kolonizace a invazivity patogenními látkami v gastrointestinálním traktu. Díky své schopnosti adheze na střevní epitel, kde zabírají místo patogenům, efektivně zamezují jejich navázání. Mění tím složení mikrobioty, což může vést k nepřímému zesílení střevní bariéry prostřednictvím komenzálních bakterií (Ohland & MacNaughton 2010). Některá probiotika mohou dokonce přímo usmrcovat nebo inhibovat růst patogenních bakterií prostřednictvím exprese antimikrobiálních faktorů, jako jsou bakteriociny. Mohou také soutěžit o vazebná místa na mucinech nebo epiteliálních buňkách s komenzály nebo patogeny. Další pozitivní vlastností je, že mají vliv na zvyšování aktivity některých užitečných enzymů. Jako příklad může být uvedeno zvyšování galaktosidázy pro umírnění intolerance laktózy (Fuller 1989).



Obrázek 2 Efekt probiotických bakterií na funkci bariéry střevního epitelu. Probiotika ovliňují epiteliární bariéru mnoha různými způsoby, které pomáhají při vývoji a udržování homeostázy. Zaměřují se na 3 různé oblasti v rámci druhu probiotik. A) přímé účinky na epitel. B) účinky na slizniční imunitu. C) účinky na infikující nebo jiné okolní bakterie (Ohland & MacNAughton, 2010).

3.4 Doplňkové látky v probioticích

Do probiotických přípravků se přidávají nejrůznější dolňkové látky, které podporují jejich účinek.

Prebiotika

Prebiotikum je neživotaschopná potravinová složka selektivně metabolizovaná prospěšnými střevními bakteriemi (Manning & Gibson 2004). Jedná se obecně o nestravitelné oligosacharidy a zejména fruktooligosacharidy. Stimulují růst endogenních bifidobakterií. Prebiotika navíc modulují metabolismus lipidů, pravděpodobně prostřednictvím fermentačních produktů (Gibson & Roberfroid 1995).

Huminové látky

Huminové látky se využívají pro čištění střev. Mají vysokou vazebnou, pufrační, fungiciní a antibakteriální kapacitu. Mají schopnost na sebe navázat vše, co na sliznici ulpívá. Podporují tvorbu ochranného filmu na povrchu sliznic, který napomáhá omezovat průnik možné infekce, snižuje růst některých mikroorganismů a váže na sebe látky anorganického původu, zejména těžké kovy a toxiny (Arif et al. 2019)

Vláknina Psyllium

Vláknina z Psyllium je hojně používána jako farmakologický doplněk, potravinová přísada, ve zpracovaných potravinách, které pomáhají při regulaci hmotnosti, reguluci kontroly glukózy, snižování lipidů v séru. Má terapeutickou hodnotu při léčbě zácpy, průjmu, syndromu dráždivého tračníku, rakoviny tlustého střeva a diabetu (Singh 2007).

3.5 Využití probiotik u psů

Blahobyt domácích zvířat závisí na střevních mikrobech. Specifické probiotické kmeny mohou být užitečné při výživě a péči o psy. Většina psů je na dietě s vysokým obsahem sacharidů a čelí podobným výzvám životního stylu jako lidé. Zajištění řádné péče a nutričně vyvážené stravy pro domácí zvířata je považováno za součást naší odpovědnosti. Specifické probiotické kmeny nebo jejich definované kombinace mohou být užitečné pro výživu psů, terapii a péči (Grześkowiak et al. 2015). Probiotika mají schopnost působit jako regulátory střevní mikroflory, zdroje trávicích enzymů nebo stimulačních faktorů imunitního systému (Biourge et al. 1998).

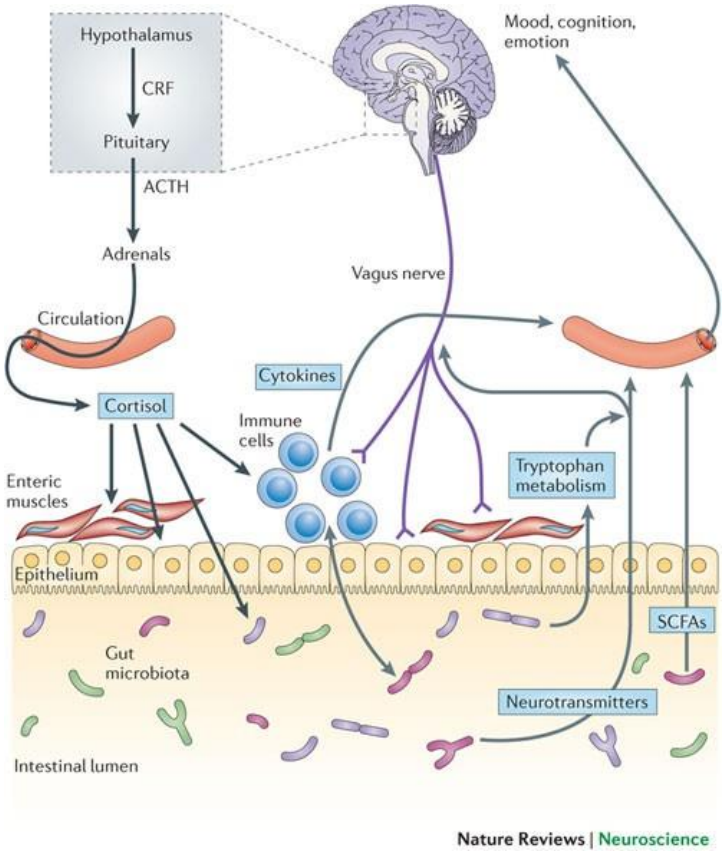
Suplementace probiotik je úspěšná v prevenci a léčbě akutní gastroenteritidy, podpoře mikróflory spojené s antibiotickou terapií (Barrows & Deam 1985), léčbě zánětlivého onemocnění střev (IBD) a prevenci alergie u domácích zvířat (Grześkowiak et al. 2015).

U psů se využívají probiotické doplňky stravy nejčastěji v podobě pasty nebo prášku, který se přidává do krmné dávky. Nejčastěji se podávají po léčbě antibiotiky, dietních potížích, nemoci nebo při odstavu. Odstav, nový domov a změna v dietě jsou podmínky, o nichž je známo, že ovlivňují střevní mikroflóru psů a pro které by probiotika mohla být prospěšná. Probiotika mohou být také přínosem pro psy žijící ve větších počtech nebo například v útulcích, kde koncentrace zvířat, tlak infekce a stres mohou významně ovlivnit odolnost zvířat vůči chorobám (Biourge et al. 1998).

3.6 Vliv mikrobioty na cetralní nervovou soustavu

Gastrointestinální trakt má kromě trávicí funkce řadu zajímavých funkcí v těle. Obzvláště fascinující částí gastrointestinálního traktu jsou střeva, která mají svůj vlastní nervový systém, často přezdívaný jako „druhý mozek“, který obsahuje zhruba padesát až sto milionů neuronů, tedy zhruba tolik co má mícha (Mayer 2018). Osu střevo-mozek bychom mohli definovat jako soubor obousměrných imunitních, endokrinních a neurálních signálních drah, pomocí nichž střevní mikrobiota interauje s organismem (Marie Kosiewicz et al. 2017). Obousměrný komunikační systém zajišťuje řádné udržování gastrointestinální homeostázy a trávení, ale pravděpodobně má i vliv na afekt, motivaci a vyšší kognitivní funkce (Mayer 2011). Komunikace mezi mozkem a střevním mikrobiomem může probíhat jak přímými, tak nepřímými cestami, prostřednictvím nervů nebo pomocí chemických poslů (Sharon et al. 2016).

Sharon et al. (2016) uvadějí za mechanismy přenášení zpráv ze střeva do mozku: sekundární metabolity bakterií, metabolické prekurzovy, imunitní signalizaci, signalizaci prostřednictvím bloudivého nervu, přenos pomocí osy HPA (Hypotalamo-hypofýzo-nadledviková osa).



Obrázek 3 Cesty obousměrné komunikace střevní mikrobioty a mozku (Cryan et Dinan 2012)

Při komunikačním procesu, zpětné vazby vedoucí k homeostáze, jsou základem neurotransmitery, neuropeptidy, cytokyniny, hormony, růstové faktory, které zprostředkovávají vztah mezi imunitním systémem a centrální nervovou soustavou (Downing et Miyan 2000). Přímá cesta komunikace je prostřednictvím bloudivého nervu (X. hlavový nerv – *nervus vagus*), ten je spojen s centrální nervovou soustavou, kam 90 % jeho senzorických vláken odvádí impulzy z celé oblasti gastrointestinálního traktu. Na vagová zakončení působí nejen klasické neurotransmitery, ale také řada dalších chemických produktů útrobního metabolismu a produktů střevního mikrobiomu (Honzák 2017).

Další příklad způsobu komunikace může být prostřednictvím short chain fatty acid (SCFA, mastných kyselin s krátkými řetězci) a dalších produktů, především cytokiny (Sherwin et al. 2016). Což jsou proteiny vylučované buňkami imunitního systému buď lokálně, nebo do krevního oběhu. Mají signální charakter a vyvolávají imunitní odpovědi (Honzák 2017).

Mikrobiota ovlivňuje centrální nervovou soustavu přes osu mikrobiota-střevo-mozek. Složení mikrobioty může ovlivnit mnoho faktorů. V raném věku to může být infekce, způsob porodu, používání antibiotik, způsob výživy, stresových faktorů prostředí. Dále je ovlivněna stárnutím, kdy se s postupujícím věkem hostitele mikrobiální rozmanitost zmenšuje. Významným ovlivněním osy mikrobity, střeva a mozku ve všech fázích života je stres. Studie zaměřující se na vliv střevní mikrobioty se nejčastěji zabívájí propojení s autismem, úzkostmi, obezitou, schizofrenií, depresemi, Parkinsonovy choroby a Alzheimerovy choroby (Cryan et al. 2019).

U společenských psů byla potvrzena hypotéza souvislosti mezi kognitivním výkonem, věkem a složením střevního mikrobiomu. Nejhojnější kmeny se ukazují Bacteroidetes a Firmicutes (oba 33 %), dále Fusobacteria (24 %), následují Proteobacterie (7%) a Actinobacteria (2 %) (Kubinyi et al. 2020) Běžnými nálezy v rozdílech souvisejících s věkem jsou pokles diverzity střevního mikrobiomu a nadbytek laktobacilů se zvyšujícím se věkem (Mizukami et al. 2019). Obecně je vyšší podíl Fusobacterií spojován se zdravou mikrobiotou (Pilla & Suchodolski 2020).

Paměťová výkonnost byla také spojena se složením mikroflóry. Psi s nižší výkonností (tj. psi, kteří měli více chyb v paměťových testech) mají ve vzorcích stolice relativně více Actinobakterií (Kubinyi et al. 2020). Tento výsledek je v souladu s vysokou abundací některých Actinobacteria v gastrointestinálním traktu pacientů s Alzheimerovou chorobou (Emery et al. 2017).

K objasnění osy mikrobiota, střevo, mozek se využívají experimentální přístupy zahrnující použití germ free (axenických) zvířat, zvířat s patogenními bakteriálními infekcemi a zvířat vystavených probiotikům nebo antibiotikům. V současnosti studie zkoumající účinky složení střevní mikrobitoty na funkci mozku zahrnovaly převážně zvířecí modely a poruchami chování, jako je úzkost, deprese a kognitivní dysfunkce (Montiel-Castro et al. 2013). Data odhalují, že osa mikrobiota, střevo, mozek má také učinky na emoce, motivaci a další vyšší kognitivní funkce (Mayer 2011). Nekteré studie naznačují, že může být ovlivněno také formování paměti, emoční vzrušení, afektivní chování a rozhodovací procesy (Craig 2002; Berntson et al. 2003).

3.6.1 Látky produkované bakteriemi

Bakterie v gastrointestinálním traktu produkují, nebo se účastní syntézy látek, které mohou buď pozitivně, tak negativně ovlivňovat centrální nervovou soustavu. Tato kapitola se bude blíže věnovat těmto látkám jako jsou neurotransmitery, těkavé karboxylové kyseliny a cytokiny, které mohou ovlivňovat funkci centrální nervové soustavy.

Neurotransmitery:

Mikrobiota syntetizuje několik neurochemických látek (např. serotonin, GABA-kyselina gama-aminomáselná a další). Tyto látky se podílejí na náladě, chování a kognitivních schopnostech hostitele. Velká část z těchto neuroaktivních látek je také důležitými signálními molekulami v interakcích mikrobiota-střevo-mozek (Cryan et al. 2019).

Serotonin (5-hydroxytryptamin, 5-HT) je klíčovým neurotransmiterem v ose mozku a střeva. Serotonin je produkován v mozku a ve střevech, kde je jeho prekurzorem tryptofan a společně mají několik významných fyziologických funkcí (O´Mahony et al. 2015). U GF(germfree-bezmikrobních) myší byla naměřena snížená hladina serotoninu, především v tlustém střevě, což potvrzuje, že bakterie hrají roli při jeho syntéze (Sjögren et al. 2012). Avšak obecně samotná syntéza serotoninu z tryptofanu probíhá jen minimálně. Příkladem bakterií, které jsou schopny této syntézy mohou být *Escherichia coli, Streptococcus thermophylus* nebo některé druhy *Lactobacillus* (Shisov et al. 2009; Tsavkelova et al. 2006).

Další významný neurotransmiter je kyselina gama-aminomáselná (GABA). GABA je uvolňována na inhibičních synapsích v rozsáhlých oblastech mozku. Je syntetizována z glutamátu dekarboxylázou kyseliny glutamové (Nicholls 2013). V mozku je převážně považována za inhibitor synaptického přenosu (Bienenstock et al. 2010). Inhibiční interakce zprostředkovává v celé centrální nervové soustavě prostřednictvím tří skupin receptorů. Nejběžnějšími jsou $GABA_A$ receptory. Receptory odpovídají na GABA zvýšením chloridové vodivosti a jejich aktivita je modulována antikonvulzivy (například barbituráty a benzodiazepiny) (Nicholls 2013). Periferně může působit tím, že tlumí viscelární bolest (Bienenstock et al. 2010). Dysfunkce GABA přináší několik psychikých onemocnění, jako je například deprese nebo úzkost (Cryan et Kaupmann 2005).

Barrett et al. (2012) prokázal in vivo, schopnost některých střevních kmenů bifidobakterií produkovat GABA. Pomocí pěstování kmenů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* v médiu obsahující glutamát sodný byl měřen růst bakterií a konverze glutamátu sodného na GABA. Jako nejúspěšnější vyšel kmen *Lactobacillus brevis*, který přeměnil až 100 % glutamátu sodného na GABA. Dalším úspěšným kmenem v pořadí byl *Bifidobacterium dentium* (Barrett et al. 2012).

Cytokiny:

Kromě neurotransmiterů produkuje mikrobiom pomocí dalších střevních systémů cytokiny. Jedná se o proteiny vylučované buňkami imunitního systému, buď lokálně, nebo do krevního oběhu. Cytokiny hrají důležitou roli v molekulárních a buněčných mechanismech podporujících učení a paměť (McAfoose & Baune 2009).

Cytokiny mohou být děleny několika způsoby podle jejich funkce, struktury, produkčních buněk atp. Cytokiny jsou spojovány s poklesem a s podporou kognitivních funkcí (McAfoose & Baune 2009). Výskyt i nízké hladiny zánětlivých cytokinů může ovlivňovat komplexní mozkové funkce (Pollmächer et al. 2002). S kognitivním procesem

jsou spojovány prozánětlivé cytokiny interleukin 1 (IL-1), interleukin 6 (IL-6) a tumor nekrotizující faktor (TNF) (Holmes et al. 2009; McAfoose & Baune 2009). Nízké hladiny TNF za nezánětlivých imunitních podmínek jsou nezbytný pro normální kognitivní funkce. Naopak při absenci TNF nebo jeho nadměrného výskytu dochází v mozku k narušené schopnosti procesu učení a paměti (Fiore et al. 2000; Baune et al. 2008). Podobné účinky na kognitivní funkce má i interleukin 1 a interleukin 6, kdy při úplné absenci nebo zvýšených hodnotách dochází k narušení kognitivních schopností (Hryniewicz et al. 2007; Goshen et al. 2008). Ke snížení hladiny prozánětlivých cytokinů mohou být nápomocná probiotika. Při dlouhodobém podávání probiotických bakterií *Bifidobacterium infantis*, došlo u potkanů k výraznému snížení hodnot hladiny cytokinů TNF a IL-6 (Desbonnet et al. 2008).

Těkavé mastné kyseliny:

Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA – short chain fatty acid) jsou produkovány mikrobiální fermentací vlákniny v tlustém střevě (Mueller et al. 2020). SCFA jako hlavní anionty tlustého střeva a hlavní zdroj energie pro kolonocyty jsou rychle absorbovány většinou neiontovou difuzí, ale také aktivním transportem. SCFA obecně, ale především Butyrát, zvyšují růst laktobacilů a bifidobakterií a hrají hlavní roli ve fyziologii a metabolismu tlustého střeva (Roy et al. 2006).

3.6.2 Vliv mikrobioty na kognitivní schopnosti

Nedávné důkazy naznačují, že různé formy podprahových vstupů ze střev, včetně těch, které jsou generovány střevními mikroby, mohou ovlivnit tvorbu paměti, emocionální vzrušení a afektivní chování (Mayer 2011).

Kognitivni schopnosti:

Ke kognitivním dějům řadíme kromě senzorických procesů především vnímání, učení, paměť, imaginace a myšlení. Kognitivní procesy, které mohou být souhrně označovány jako rozum, slouží nejen k získávání informací z vnějšího prostředí, ale také k rozhodování, usuzování, plánování, řešení problémů (Samuel, 2002).

PAMĚŤ:

Paměť je proces uchování informace v živých organismech a je úzce vzpjatá s učením (Samuel 2002). Učení může být definováno jako proces získávání nových informací, zatímco paměť je vztahována k přetrvávání naučeného ve stavu, který může být vybaven později (Squire 1987). Paměť je tedy schopnost organismu ukládat a vybavovat informace získané osobními zkušenostmi. Každá zkušenost vytváří paměťovou stopu a tato počáteční paměť se, buď postupně oslabuje až vymizí, nebo naopak upevňuje, takzvaně se konsoliduje (Nadel & Moscovitch 1997).

Většinou jsou uváděny tři hlavní fáze fungování paměti. Registrace (kódování) je přijetí, zpracování a kombinování obdržených informací. Uložení informace můžeme definovat jako tvorbu trvalého záznamu zakódované informace, který má fyzický základ

v mozku. Vybavení uložené infomace, události nebo paměťových stop je proces vědomého vybavení zapamatované informace (zkušenosti) na podkladě kontextu (souvislosti) s uloženou událostí (Hynie et Klenerová 2010).

Ne všechny vjemy jsou uchovávány stejně. Podle délky uložení můžeme rozlišovat dva základní typy paměti, krátkodobou a dlouhodobou. Všechny události jdou nejprve do krátkodobé paměti (paměť pracovní, operační). Krátkodobá primární paměť má malou kapacitu, zato však umožňuje okamžité vybavení informace (Veselovský 2005). Závisí na míře pozornosti a vyžaduje jen okamžik, obvykle několik desetin vteřiny, kterého je zapotřebí ke kodování vstupní informace. Krátkodobá pamět je limitovaná, to znamená, že živočich je schopen naučit se během určité doby pouze dané množství položek (Samuel 2002). Cvičením a opakováním ji lze přeměnit v dlouhodobou sekundární paměť (Veselovský 2005), která může trvat od několika minut k desetiletím (Samuel 2002). A dále dlouhodobou paměť terciální ta ukládá dobře konsolidované procesy a jsou v ní uloženy v podstatě nezapomenutelné vědomosti (vlastní jméno, umění číst a psát). Kapacita paměti je různá pro jednotlivé druhy paměti. U primární je velmi malá, naopak u sekundární velká, a u terciální opět menší (Veselovský 2005).

Dalším důležitým kritériem, podle kterého můžeme rozlišovat paměť je, zda se paměťová stopa promítá do vědomí jedince či nikoliv. Lze pak rozlišovat paměť deklarativní (explicitní) nebo nedeklarativní (implicitní) (Lynch 2004). K vybavení slouží tzv. paměťové systémy. Paměťový systém, který vyžaduje vědomí k vybavení informace se označuje jako explicitní. Tento typ paměti může být vědomě vzpomenutý. Oproti tomu paměť nevyžadující k vybavení informace vědomí se označuje jako implicitní, tj. je podvědomá a je vyjádřena změnou chování. Při implicitním učení nedochází k uvědomění, že se organismus něco učí (Hynie & Klenerová 2010).

Neurotransmitery ovlivňující paměť:

Serotonin (5-HT), díky své přítomnosti v různých strukturách centrálního nervového systému, hraje roli v široké škále chování. Mezi chování, které serotonin ovlivňuje, můžeme zařadit emoční stavy, příjem potravy, sexuální chování (Buhot et al. 2000), spánek, srdeční regulaci (McEntee & Crook 1991). Významnou roli hraje také v procesech učení a paměti. Jeho působení je zprostředkováno přes specifické receptory umístěné v klíčových mozkových strukturách (Buhot et al. 2000). Na procesech ovlivňující paměť se nepodílí pouze tyto specifické receptory. Serotonin může být odebírán ze synaptické štěrbiny pomocí transportéru, který je označovaný jako SERT, jehož funkcí je modulovat koncentraci serotoninu v extracelulární tekutině (Murphy et al. 2004). Inhibicí transportéru SERT dochází k zvýšení hladiny serotoninu a ke zlepšení paměti (Hobin et al. 2006).

3.7 Vliv neurodegenerativních onemocnění a stresu na kognitivní schopnosti

Některé metabolity modulují signální dráhy a spouštějí produkci prozánětlivých cytokinů, čímž mohou přispívat k patogenezi neurodegenerativních onemocnění. Ovlivnění kognice mikrobiotou dokazují studie, které odhalily velké posuny složení střevní mikroflóry související s neurodegenerativním onemocněním. Testované myši vykazovaly významné snížení protizánětlivých druhů Firmicutes, Verrucomicrobia, Proteobacteria a Actinobacteria se současným zvýšením prozánětlivých druhů Bacteroides a Tenericutes (Dinan et al. 2017).

Jako možná varianta snížení příznaků neurodegenerativních onemocnění se jeví probiotika. Rostoucí množství dat ukazuje, že konzumace probiotik má pozitivní účinky nejen na chování a poruchy související se stresem (H. Wang et al. 2016), jako mohou být být úzkosti a deprese, ale také na kognitivní funkce (Savignac et al. 2014).

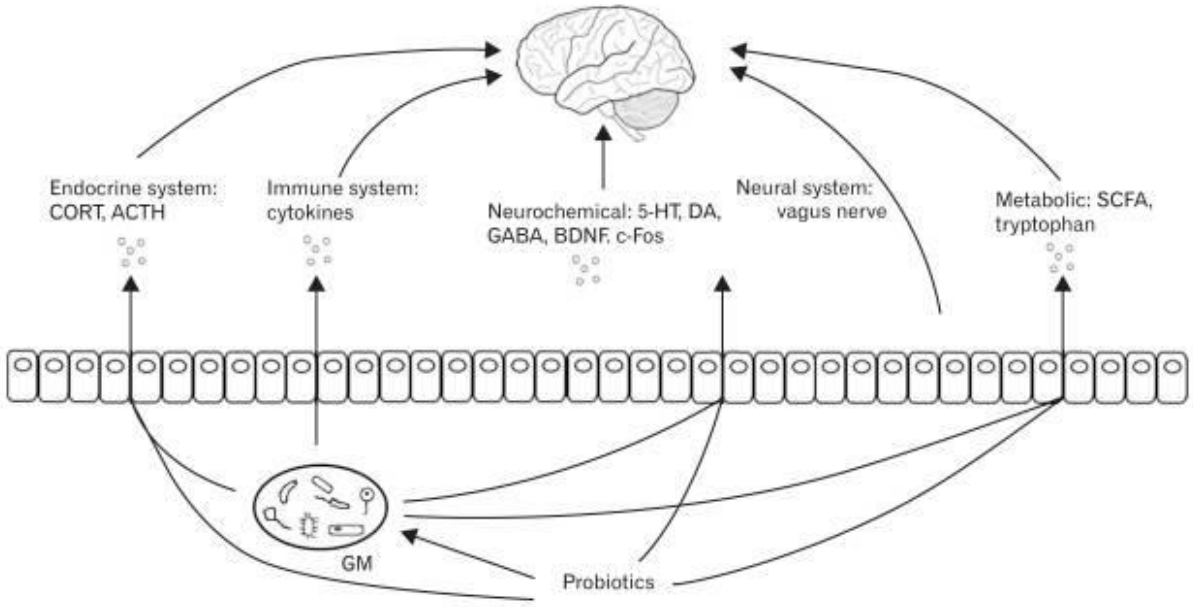
Negativní vliv na kognitivní schopnosti má kromě neurodegenerativních onemocnění také stres. Myši při vystavení stresu vlivem bakteriální infekce vykazují dysfunkci paměti. U myší, které byly vystaveny bakteriální infekci a zároveň jim byla denně podávána probiotika, před a během infekce, nedocházelo k narušení paměti (Gareau et al. 2011) Existuje jen málo studií, které by přímo posuzovaly účinky probiotik na kognici. Studie Bentona a kol. (2007) je jednou z mála intervenčních studií, které přímo zkoumaly účinky probiotik na kognici. Účinky však nebyly takové, jaké by se očekávaly. Po 20 dnech intervence bylo zjištěno, že jedinci ve skupině s probiotiky dosahovali výrazně horších výsledků v testu sémantické paměti ve srovnání se skupinou užívající placebo.

Ve většině případů měla probiotika vliv na kognitivní soustavu u zvířat s neurodegenerativním onemocněním nebo při vystavení zvířat stresu (Ohland et al. 2013; Liang et al. 2015; Wang et al. 2015). Probiotika byla schopná v těchto případech zlepšit deficit paměti způsobený stresem, depresemi nebo patogenezi způsobenou stárnutím organismu.

3.8 Vliv probiotik na kognitivní schopnosti

Počet studií, které využívají probiotika ke změně funkcí centrální nervové soustavy, se za posledních několik let zvýšil. Je uváděno, že jejich vliv spočívá ve změně gastrointestinální mikrobioty. Nejčastější výzkumy vlivu probiotik na centrální nervovou soustavu se zabývají studiem jejich vlivu na zmírnění úzkostných stavů a depresí (H. Wang et al. 2016).Většina studií zkoumá účinky jediného kmene probiotik. Mezi často používané patří *Bifidobacterium* (Bercik et al. 2011; Savignac et al. 2014) a *Lactobacillus* (Liang et al. 2015; Liu et al. 2016). Je využíváné i kombinací těchto dvou kmenů (Messaoudi et al 2011). Nejčastější délka užívání probiotik ve výzkumech na zvířatech je 14 dní. Toto období se ukazuje jako dostačné a již po tak krátké době se objevují pozitivní výsledky (H. Wang et al. 2016).

Probiotika mohou měnit přímo biochemii CNS, například ovlivněním hladin BDNF (mozkový neurotrofický faktor) (O'Sullivan et al. 2011). BDNF se pevně podílí na diferenciaci a přežití neuronů centrální nervové soustavy. Objevil se také jako důležitý regulátor synaptogeneze a mechanismů synaptické plasticity, které jsou základem učení a paměti(Cunha et al. 2010). Dále mohou probiotika ovlivnit biochemii CNS změnou hladin kyseliny γ-aminomáselné (GABA) (Bravo et al. 2011), serotoninu (5 hydroxytryptamin; 5 HT) a dopaminu (DA), a tak ovlivnit mysl a chování (Liu et al. 2016). Probiotika mohou ovlivňovat CNS také nepřímo prostřednictvím střevní mikrobioty. Zvyšují diverzitu mikroflóry a složení prospěšných bakterií (Smith et al. 2014). Zlepšením střevní mikrobioty dochází ke změně hladin metabolitů, jako jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem a tryptofan, což může vést k nepřímému zlepšení funkcí CNS (Hsiao et al. 2013). Probiotické účinky shrnuje Wang et al. (2016) v *obrázku č. 4.*



Obrázek 4 Mechanismy probiotického působení na centrální nervový systém *(Wang et al. 2016).*

Studie testující vliv probiotik na kognitivní funkce probíhají většinou na zvířecích modelech, nejčastěji používanými druhy jsou laboratorní myši nebo potkani. Během výzkumů se zpravidla ukázalo, že probiotika mají příznivý vliv na výkonnost paměti (Wang et al. 2016).

Wang et al. (2015) hodnotili to, jak mohou probiotika měnit fyziologické a psychologické změny vyvolané antibiotiky. Výzkum probíhal na potkanech léčených ampicilinem
za přítomnosti nebo nepřítomnosti *Lactobaillus fermentum.* Výsledky prokázaly, že probiotika normalizovala složení střevní mikroflóry a zmírnila zánět tlustého střeva vyvolaný ampicilinem. Probiotika v tomto případě zmírnila také ampicilinem indukované

poškození retence paměti. Další studie, zaměřené na ovlinění paměti probiotiky, udávají pozitivní výsledky *Lactobacillus helveticus* na prostorovou paměť u myší (Wang et al. 2015; Wang et al. 2016).

Existuje stále více důkazů, že probiotika dovedou snižovat příznaky úzkosti, deprese a mají kladný vliv na kognitivní schopnosti. Při testování různých aspektů kognice však dochází k výsledkům, že účinky probiotik jsou závislé na použitém kmeni bakterií. Jako příklad mohou být uvedeny dva různé kmeny *bifidobakterií.* Kdy u *Bifidobacterium longum* bylo prokázáno zlepšení kognice u myší. Kdežto u *Bifidobacterium breve* nikoliv. Zde byl popsán pouze minimální nebo žádný vliv na paměť (T. Wang et al. 2015).

4 Metodika

Experiment byl proveden v rámci variabilní skupiny 18psů, kteří byli natáčeni během testu krátkodobé paměti, před a po užívání probiotik případně placeba v podobě kloubní výživy. Videozáznamy byly následně vyhodnoceny a a hodnoty zpracovány pomocí statistické analýzi dat.

4.1 Subjekty

Pro experiment bylo náhodně vybráno 18 psů různého plemene a věku. Dobrovolníci byli vybráni na základě veřejné výzvy s ohledem na co nejrůznorodější variabilitu skupiny. Ze strany majitelů psů nebyla nutná žádná předchozí příprava.

Psi byli náhodně rozděleni do dvou skupin. Ve skupině užívající probiotika bylo 10 psů a experiment dokončilo 8 psů. Jeden pes bohužel sežral celé balení probiotik najednou a musel být z testování vyřazen. U druhého vyřazeného psa z expermentu se během průběhu užívání probiotik, pravděpodobně zhoršil a později prokázal šedý zákal, což mohlo zapříčinit ovlivnění výsledků. Ve skupině užívající placebo bylo 8 náhodně vybraných psů a experiment dokončilo 7. Jeden z psů musel být ze zdravotních důvodů nesouvisejících s experimentem utracen.

PSI UŽÍVAJÍCÍ PROBIOTIKA				
číslo psa	**věk**	**pohlaví**	**hmotnost**	**plemeno**
1	4 roky	fena	20 kg	saluki(perský chrt)
2	5 let	fena	30 kg	československý vlčák
3	10 let	fena	15 kg	kříženec
4	3,5 let	fena	6,5 kg	kříženec yorkšíra
5	2,5 let	fena	15,5 kg	kříženec
6	1 rok	pes	25 kg	anglický bulteriér
7	8 let	pes	29,9 kg	československý vlčák
8	7 let	pes	27 kg	australský ovčák
9	1 rok	pes	12 kg	francouzský buldoček
10	12 let	pes	35 kg	zlatý retrívr

Tabulka 2 Přehled psů užívajících probiotika (autor: Klára Sekvardová)

PSI UŽÍVAJÍCÍ PLACEBO				
číslo psa	**věk**	**pohlaví**	**hmotnost**	**plemeno**
11	3roky	pes	37kg	něm. Ovčák x am. Straff teriér
12	9 let	fena	24 kg	kříženec
13	6 let	fena	7 kg	border terier
14	5 let	pes	16kg	x jezevčík
15	3,5 let	pes	16,5 kg	stafordšírský bulterier
16	4 roky	pes	23 kg	kříženec
17	7 let	fena	28 kg	kříženec
18	12 let	pes	34 kg	zlatý retrívr

Tabulka 3 Přehled psů užívajících placebo (autor: Klára Sekvardová)

4.2 Materiály

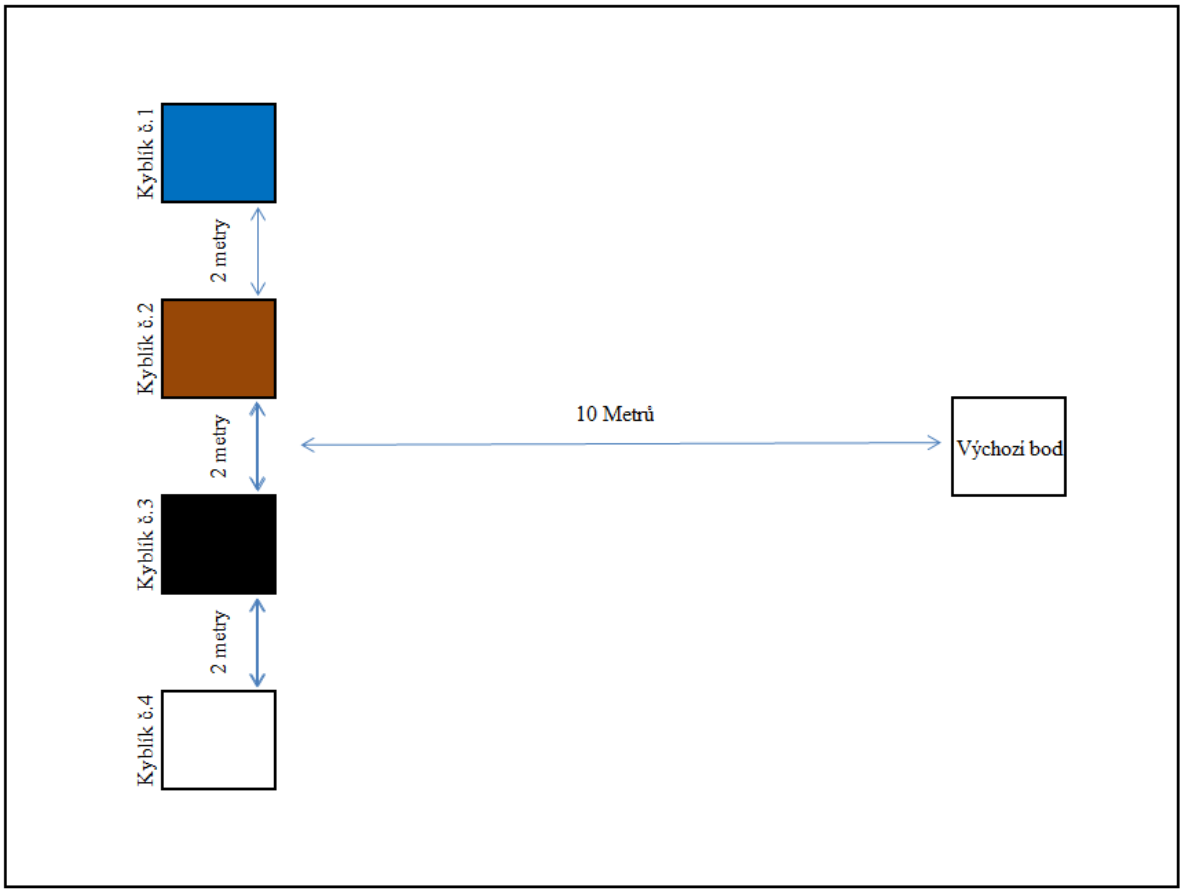
4.2.1 Probiotika

Pro experiment byla vybrána probiotika značky Canvit, Canvit Probio pro psy. Zvolena byla vzhledem k jejich dostupnosti pro širokou veřejnost a obsahu bakteriálního druhu *Enterococcus faecium* hojně využívaného v probioticích pro psy. Dávkování bylo určeno podle dávkování doporučeného výrobcem, 1g na 5kg váhy jedince, kdy 1 g probiotik obsahuje: Probiotikum Enterococcus faecium 7,5x10(9) CFU, prebiotikum Inulim 250g, Beta glukany (Fibosel) 35 mg, Vitamín C 400 mcg. Probiotikum bylo podáváno jednou denně společně s krmivem po dobu 30 dnů.

4.2.2 Placebo

Jako placebo byla zvolena kloubní výživa (čistý hydrolyzovaný kolagen). Dávkování bylo zvolené stejně jako u probiotik, 1g na 5kg váhy jedince. Obdobně jako u probiotik byla i kloubní výživa podávána jedenkrát denně s krmivem po dobu 30dnů.

4.3 Schéma testu



Obrázek 5 Schéma experimentu (autor: Klára Sekvardová)

Test probíhal ve venkovnívh prostorech. K samotnému testu bylo využito dvou stejných sad 4 různých nádob (kyblíků), lišících se barvou (modrá, černá, hnědá, bílá), velikostí i tvarem. Nádoby byly umístěny 10 metrů od výchozího bodu a 2 metry od sebe v jedné linii.

4.3.1 První fáze

Během první fáze byl pes veden na vodítku, z výchozího bodu, postupně okolo sady 4 kyblíků různých velikostí, tvarů a barev, jejichž pořadí bylo určeno losem. V jedné z těchto nádob byla umístěna potrava. Nádoba, ve které byla umístěna potrava, byla taktéž určena losem. Vedenému psovi bylo dovoleno zkonzumovat pouze určité množství potravy, aby měl motivaci vrátit se v druhé fázi pro zbytek potravy. Následně byl odveden do zákrytu, aby nemohl pozrovat přípravu na druhou fázi testu. Pro zvýšení motivace, nebyl pes v den experimentu krmen.

4.3.2 Druhá fáze

Mezi první a druhou částí byla vždy pauza dlouhá 3 minuty, během které byla provedena příprava na druhou fázi testu. Během přípravy byla vyměněna sada nádob z první fáze za nádoby stejné, ale ve kterých nebyla nikdy žádná potrava. Jejich pořadí bylo opět náhodně určeno losem.

Pes byl přiveden opět na výchozí bod, kde byl odpoután z vodítka a následně mu bylo uděleno „volno“. Následovalo pozorování, zda pes poběží směrem k nádobám a ve které z nich bude hledat potravu. Pes měl vždy časový limit jednu minutu, během kterého mu byl umožněn volný pohyb. Byl ponechán na volno, a následně byl opět přivolán svým majitelem.

4.3.3 Třetí fáze

Během třetí fáze experimentu byli psi rozděleni na dvě skupiny, kdy jedné z nich byla poskytnuta probiotika a druhé placebo. Probiotika i placebo mělo být podáváno psům po dobu 30 dnů. Během této doby dobrovolníci vedli záznam, do předem vytvořených formulářů, které obsahovali jejich kontrolu, zda bylo podáváno probiotikum(placebo) každý den. Dobrovolníci nevěděli, zda dostali probiotika nebo placebo.

Po 30dnech byl experiment zopakován podle fáze jedna a fáze dvě. Celý experiment byl následně statisticky vyhodnocen na základě pořízených videozáznamů.

4.4 Natáčení

Z průběhu testování byl vždy pořízen videozáznam pomocí kamery umístěné ve vzdálenosti 12 metrů od výchozího bodu.

4.5 Statistická analýza dat

Hlavní statistické analýzy byly spočítány v programu R (R Development Core Team, 2021). Pro otestování vztahu mezi časem (v sekundách) potřebným k (a) dosažení kyblíků, (b) určení správné polohy kyblíku, (c) určení správné barvy kyblíku, (d) dosažení správného kyblíku (vysvětlující proměnné) a typem experimentálně podaného přípravku (tři kategorie: před podáním přípravku, placebo, probiotikum) (prediktor) byly použity lineární mixované modely implementované ve funkci lmer v balíčku lme4 (Bates et al., 2015). Jako kovariáty byly do každého modelu vloženy informace o věku, pohlaví a hmotnosti pokusného jedince. Pro lepší interpretaci efektů jednotlivých prediktorů byly škálovány a centrovány všechny kontinuální prediktory (tj. věk a hmotnost pokusného psa) pomocí funkce scale. Pro všechny prediktory jsme spočetli míru jejich vzájemné kolinearity pomocí tzv. „variance inflation factors“ (VIFs) pomocí funkce vif v balíčku car (Fox et al., 2020). Analýza prokázala jenom velice nízkou

kolinearitu mezi prediktory (VIF <1.2 pro všechny kombinace prediktorů) a teda jejich vhodnost pro vložení do stejného modelu. Ve všech modelech byly použity identity testovaného jedince jako náhodný faktor a bylo tak kontrolováno v analýzách na efekty spojené s identitou testovaného jedince. K vyhodnocení statistické průkaznosti vztahů mezi vysvětlujícími proměnnými a prediktorem, resp. kovariáty, byl použit balíček lmerTest (Kuznetsova et al., 2013). Pro každý model byl spočítán pomocí funkce r.squaredGLMM v balíčku MuMIn (Barton, 2022) dva koeficienty determinace (R2): (a) pro fixní (tj. typ přípravku, věk, pohlaví a hmotnost jedince) a náhodné (tj. ID jedince) efekty společně, a (b) jenom pro fixní efekty. Koeficient determinace říká z kolika procent je vysvětlovaná proměnná vysvětlena pomocí všech prediktorů.

5 Výsledky

Výkon kontrolní a experimentální skupiny podaný během paměťového testu, byl vyhodnocován pomocí statistických analýz lineární regrese.

Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi časem potřebným k dosažení řady pokusných kyblíků (vysvětlovaná proměnná) a typem podaného přípravku (tři kategorie: před podáním, placebo a probiotikum – v modelu slouží jako referenční hladina) (prediktor). Do modelu byly vloženy jako kovariáty informace o věku, pohlaví a hmotnosti testovaného jedince. Výsledky ukazují, že psy po podání probiotika dosáhli řady pokusných kyblíků za signifikantně kratší čas než před jeho podáním. V tabulce jsou reportovány odhady regresního koeficientu, jeho standardní chybu, počet stupňů volnosti, t hodnotu a p hodnotu. Koeficient determinace pro fixní a náhodné efekty je 0,548. Koeficient determinace jenom pro fixní efekty je 0,215. Viz tabulka 4.

Proměnná	**Regresní koeficient**	**Standardní chyba**	**Stupně volnosti**	**t hodnota**	**p hodnota**
Intercept	5,243	2,197	25,053	2,386	0,024
Typ (Placebo)	2,323	2,577	25,495	0,902	0,373
Typ (Před podáním)	5,641	1,879	17,549	3,001	0,007
Věk	-1,747	1,341	14,218	-1,303	0,213
Pohlaví (Samec)	-2,5195	2,738	14,193	-0,92	0,372
Hmotnost	0,925	1,311	14,004	0,706	0,491

Tabulka 4 Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi časem potřebným k dosažení řady pokusných kyblíků a typem podaného přípravku (autor: Klára Sekvardová)

Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi počtem pokusů potřebných k určení správné polohy kyblíku (vysvětlovaná proměnná) a typem podaného přípravku (tři kategorie: před podáním, placebo a probiotikum – v modelu slouží jako referenční hladina) (prediktor). Do modelu byly vloženy jako kovariáty informace o věku, pohlaví a hmotnosti testovaného jedince. Výsledky ukazují, že psy se statisticky neliší v rychlosti dosažení správné polohy kyblíku v závislosti na typu podaného přípravku. V tabulce reportujeme odhady regresního koeficientu, jeho standardní chybu, počet stupňů volnosti, t hodnotu a p hodnotu. Koeficient determinace pro fixní a náhodné efekty je 0,1. Koeficient determinace jenom pro fixní efekty je 0,1. Viz tabulka 5.

Proměnná	**Regresní koeficient**	**Standardní chyba**	**Stupně volnosti**	**t hodnota**	**p hodnota**
Intercept	1,042	0,182	32	5,716	<0,001
Typ (Placebo)	0,193	0,245	32	0,788	0,436
Typ (Před podáním)	0,272	0,201	32	1,352	0,186
Věk	-0,108	0,096	32	-1,12	0,271
Pohlaví (Samec)	-0,129	0,197	32	-0,656	0,516
Hmotnost	-0,032	0,094	32	-0,349	0,73

Tabulka 5 Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi počtem pokusů potřebných k určení správné polohy kyblíku a typem podaného přípravku (autor: Klára Sekvardová)

Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi počtem pokusů potřebných k určení správné barvy kyblíku (vysvětlovaná proměnná) a typem podaného přípravku (tři kategorie: před podáním, placebo a probiotikum – v modelu slouží jako referenční hladina) (prediktor). Do modelu byly vloženy jako kovariáty informace o věku, pohlaví a hmotnosti testovaného jedince. Výsledky ukazují, že psy se statisticky neliší v rychlosti potřebné k určení správné barvy kyblíku (tedy správného kyblíku, ve kterém byla původně potrava) v závislosti na typu podaného přípravku. V tabulce reportujeme odhady regresního koeficientu, jeho standardní chybu, počet stupňů volnosti, t hodnotu a p hodnotu. Koeficient determinace pro fixní a náhodné efekty je 0,045. Koeficient determinace pro fixní efekty je 0,045. Viz tabulka 6.

Proměnná	**Regresní koeficient**	**Standardní chyba**	**Stupně volnosti**	**t hodnota**	**p hodnota**
Intercept	3,759	0,593	32	6,339	<0,001
Typ (Placebo)	-0,202	0,799	32	-0,254	0,801
Typ (Před podáním)	-0,651	0,654	32	-0,995	0,327
Věk	-0,043	0,314	32	-0,138	0,891
Pohlaví (Samec)	0,283	0,642	32	0,441	0,662
Hmotnost	0,02	0,306	32	0,066	0,948

Tabulka 6 Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi počtem pokusů potřebných k určení správné barvy kyblíku a typem podaného přípravku (autor: Klára Sekvardová)

Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi časem potřebným k určení správného kyblíku (vysvětlovaná proměnná) a typem podaného přípravku (tři kategorie: před podáním, placebo a probiotikum – v modelu slouží jako referenční hladina) (prediktor). Do modelu byly vloženy jako kovariáty informace o věku, pohlaví a hmotnosti testovaného jedince. Výsledky ukazují, že psy se statisticky neliší v rychlosti potřebné k určení správného kyblíku v závislosti na typu podaného přípravku. V tabulce reportujeme odhady regresního koeficientu, jeho standardní chybu, počet stupňů volnosti, t hodnotu a p hodnotu. Koeficient determinace pro fixní a náhodné efekty je 0,021. Koeficient determinace pro fixní efekty je 0,021. Viz tabulka 7.

Proměnná	**Regresní koeficient**	**Standardní chyba**	**Stupně volnosti**	**t hodnota**	**p hodnota**
Intercept	23,012	4,79	32	4,804	<0,001
Typ (Placebo)	-1,029	6,455	32	-0,159	0,874
Typ (Před podáním)	-2,793	5,287	32	-0,522	0,605
Věk	-0,802	2,543	32	-0,315	0,755
Pohlaví (Samec)	1,751	5,19	32	0,337	0,738
Hmotnost	-0,085	2,478	32	-0,034	0,973

Tabulka 7 Výsledky smíšené lineární regrese modelující vztah mezi časem potřebným k určení správného kyblíku a typem podaného přípravku (autor: Klára Sekvardová)

Kognitivní test prokázal, že psi po užívání probiotik byli rychleji u řady pokusných kyblíků, které měli obsahovat potravu, nemůže být však s jistotou řečeno, že rychlejší úspěšnost byla způsobena probiotiky či nikoliv vzhledem k tomu, že mezi výsledky probiotik a placeba nebyl vyhodnocen žádný rozdíl. V tomto případě můžeme tedy předpokládat, že lepší úspěšnost psů může souviset s již předchozí zkušeností s tímto paměťovým testem při kontrolním testování před užíváním probiotik nebo placeba.

6 Diskuze

Cílem diplomové práce bylo zjistit jaký vliv mají probiotika na kognitivní shopnosti u psů, se zaměřením na rozhodovací schopnosti a krátkodobou paměť. Při experientu byla využita probiotika Canvit Probio s obsahem bakterií *Enterococcus faecium*, jako dostupná probiotika pro širokou veřejnost. Při dlouhodobém podávání (54 týdnů) *Enterococcus faecium* byl prokázán pozitivní vliv na specifické imunitní funkce u mladých psů od odstavu do 1 roku života (Benyacoub et al. 2003). Vliv *Enterococcus faecium* na centrální nervovou soustavu není dostatečně prokoumán. Existují výsledky, které prokazují pozitivní účinky snížením oxidačních markerů v mozku za současného zvýšení aktivity antioxidačních enzymů a zvýšení hladiny kyseliny y-aminomáselné a dopaminu (Divyashri et al. 2015). Ale nebyly nalezeny žádné studie zabývající se přímo výzkumem vlivu *Enterococcus faecium*. Z toho důvodu bylo zajímavé použít tento druh bakterií při našem experimentu. *Enterococcus faecium* byl použit také vzhledem ke snadné dostupnosti pro širokou veřejnost a možností snadného využití pro psy v domácí péči.

Krátkodobá pamět psů byla testována na psech různých plemen, věku i pohlaví. Principem testu bylo, zda si psi dokážou zapamatovat správný kyblík, který měli spojený s ukrytou potravou. Během experimentu se bohužel neprokázal účinek *Enterococcus faecium* a hypotéza, že probiotika budou mít vliv na kognitivní schopnosti psů, byla vyvrácena. Při vyhodnocování se zjistilo, že psi byli úspěšnější při dosažení řady pokusných kyblíků. Během kognitivního testu se prokázalo, že experimentální skupina psů, užívající probiotika, potřebovala k dosažení řady pokusných kyblíků kratší čas. Nebyl však zjištěn rozdíl mezi kontrolní skupinou, která užívala placebo a skupinou experimentální, užívající probiotika. Tento výsledek může být způsoben předchozí zkušeností psů s kognitivním testem, kterou mohli získat během kontrolního testu před užíváním probiotik nebo placeba.

Jednou z možností, proč jsme dospěli k takovému výsledku může tedy být nevhodně zvolený druh probiotik. Účinky bakterií jsou vysoce závislé na široké škále komplexních faktorů. To posiluje skutečnost, že existuje potřeba individuálních terapií na míru (Savignac 2015). Prokázala to například studie, ve které účinky *Lactobacillus* na chování korelovaly s profilem mikrobiomu a byly závislé na stravě a genotypu myší. Bylo dokonce zjištěno, že záleží i na přímo použitém kmenu bakterií. U dvou různých kmenů bifidobakterií došli vědci k odlišným výsledkům. U *Bifidobacterium longum* došlo u myší ke zlepšení kognice, kdežto u *Bifidobacterium breve* nikoliv (Wang et al. 2015).

V navazujících experimentech zabývajících se touto problematikou by mohlo být doporučeno využití jiného druhu probiotik. Mohlo by se jednat například o některé kmeny rodu *Lactobacillus* nebo *Bacteroides*, které jsou přirozenou součástí psího mikroorganismu (Pilla et Suchodolski 2021) a byl u nich prokázán pozitivní účinek na kognitivní schopnosti u myší (T. Wang et al. 2015; H. Wang et al. 2016).

U probiotik se ukazuje, že podobně jako je důležitý vhodně zvolený druh vzhledem k přirozené skladbě mikrobiomu jedince, neméně tak důležitá je i doba jejich užívání (Wang et al. 2016). Při porovnání několika studií, zabívajících se vlivem probiotik na centrální nervovou soustavu zvířat a lidí, je tato hodnota velmi variabilní. U hlodavců, na kterých tyto experimenty probíhájí nejčastěji, se jedná zpravidla o hodnoty od 7 dní až do 56 dní užívání (Davari et al. 2013; P. K. Singh et al. 2012). Nejčastější délka užívání probiotik ve výzkumech je 14 dní. Toto období se ukazuje jako dostačné a již po tak krátké době se objevují pozitivní výsledky na centrální nevovou soustavu (H. Wang et al. 2016). Při hodnocení vlivu probiotik na prostorovou paměť se však ukazuje, že je zapotřebí delší interval užívání. Jako dostačující se ukazují hodnoty v rozmezí 40–56 dní (Desbonnet et al. 2010; Davari et al. 2013; Jeong et al. 2015; J. Liu et al. 2015). V této práci byla zvolena doba užívání probiotik nebo placeba 30 dní. Pro navazující experimenty by bylo vhodné doporučit prodloužení intervalu, během kterého budou probiotika užívána.

V experimentu byl podmínkou testovaných psů dobrý zdravotní stav a negace příznaků možného výskytu neurodegenerativního onemocnění nebo stresu. Dědičná onemocnění a problémy s chováním, do kterých spadají také příznaky neurodegenerativních onemocnění, jsou nejčastějšími důvody propuštění psů z výcvikového programu (Wahl et al. 2008). Současná poptávka po služebních psech převažuje nad nabídkou (Winkle et al. 2012). Podle některých odhadů pouze 50 % psů nastupujících do výcviku postupuje na úroveň služebního psa, což zvyšuje náklady a omezuje počet dostupných psů (Batt et al. 2008). Tyto skutečnosti nahrávají myšlence ohledně ovlivnění a zmírnění příznaků neurodegenerativních onemocnění u psů, které by vedli k procentuálnímu navýšení psů nastupujících do výcviku, případně k prodloužení možnosti jejich služby v případě výskytu neurodegenerativních onemocnění způsobených stářím psů.

Vzhledem k tomu, že jedním z důvodů testování vlivu probiotik na kognitivní schopnosti je možnost jejich indikace u psů, kteří již nemohou vykonávat službu z důvodu výskytu příznaků neurodegenerativních onemocnění nebo zhoršení paměti vlivem stresu. Byl by vhodným navázáním na tuto práci experiment zkoumající vliv probiotik u psů trpící určitým stejným neurodegenerativním onemocněním.

Dalším faktorem, který je potřeba zvážit u navazujících prací je odlišná vizuální schopnost psů různých plemen. I když bylo za posledních 20 let dosaženo značného pokroku ohledně odhalení kognitivních schopností psa domácího, může být tento pokrok brzděn skutečností, jak málo se ví o tom, jak psi vyzuálně vnímají své vnější prostředí. Dosud je nejběžnějším způsobem hodnocení kognitivních schopností psa pomocí vizuálních úkolů. Přibližně 74 % kognitivních studií psů využívá vizuální úkoly (Byosiere et al. 2018).

V této diplomové práci bylo pracováno s variabilní skupinou různých plemen psů a jejich kříženců. Přesto, že statistické zhodnocení neprokázalo vliv plemene na výsledek je vhodné zvážit, zda nemůže být použitý paměťový test pro některá plemena nevhodný. V tomto případě by se mohlo jednat o rozdílné rozlišovací schopnosti jednotlivých plemen.

Testování paměti psů v této diplomové práci je založený především na vizuálních schopnostech psa. Během experimentu byly použity 2 stejné sady 4 různě barevných kyblíků (modrý, černý, hnědý a bílý). Tyto barvy byly vybrány za předpokladu, že pes je schopen vnímat barvy pomocí dichromatického vidění. Předpokládá se, že pes vidí svět v odstínech žluté, modré a šedé. Barvy zelené, žluté a oranžové vidí v odstínech žluté. Červenou barvu vidí jako tmavě šedou či černou a fialovou vidí stejně jako modrou, modře (Neitz et al. 1989). Za předpokladu správnosti těchto údajů by pes měl rozlišit mezi námi zvolenými barvami, modrou, černou, hnědou a bílou.

Některé novější poznatky ohledně distribuce tyčinkových a čípkových fotoreceptorových buněk u psů naznačují, že psi mohou být více přizpůsobeni podmínkám slabého světla a méně citlivý na vnímání barev (Mowat et al. 2008; Byosiere et al. 2018). V tomto případě by se dalo předpokládat, že by menší citlivost na rozlišování barev mohla mít vliv na kognitivní testy vyžadující rozlišování barev. Jako vhodné barvy, které jsou psi od sebe schopni dobře rozlišit, se jeví černá a bílá (Drago et al. 2019).

Zraková ostrost se vztahuje k jasnosti vidění a je závislá na optických a nervových mechanismech (např. struktura oka, zdraví oka, interpretace mozku). Zraková ostrost u psů je obtížně měřena, obvykle se odhaduje, že je podstatně horší než u lidí (Byosiere et al. 2018).

Odhadovaná ostrost u psů v porovnání s člověkem je 20/75. Tato hodnota naznačuje, že ze vdálenosti 20 stop (6,096 m) by pes mohl vnímat předmět, který by člověk s normálním zrakem mohl rozlišit na vzálenost 75 stop (22,86 m) (Miller et Murphy 1995). Rozdíly v odhadech ostrosti jsou však velmi variabilní. Vzhledem k nedostatečnému probádání této problematiky je obtížné určit pozorovací vzdálenost tak, aby byli psi schopni vnímat určený podnět (Byosiere et al. 2018). Vezmeme-li v úvahu správnost této odhadované hodnoty ostrosti, při použití výchozího bodu 10 metrů (jako bylo použito v experimentu v této diplomové práci), na kterou je pes nucen rozeznat 4 podobné předměty, může se zdát tato vzdálenost jako příliš velká. V tomto případě by bylo vhodné zjištění, zda by existovala rozdílnost výsledků, při použití kratší pozorovací vzdálenosti.

Psi se mohou relativně snadno naučit rozlišovat mezi podněty na základě vzhledu. Celkem dobře dovedou psi rozlišovat černé a bílé podněty (Drago et al. 2019). Co se týká velikosti předmětů, bylo pozorováno kolísání citlivosti. Psi úspěšně rozlišili kruhy, které se lišily v průměru o 20 %. Rozdílný průměr o 10 % už však rozlišili jen 4 z osmi psů a rozdílný průměr o 5 % nerozlišil žádný ze psů. (Byosiere et al. 2017). Zdá se také, že psi jsou obecně úspěšnější při rozlišování předmětů, které mají absolutní velikost větší. Při použití stejných procentuálních rozdílů ve velikosti mezi stimuly různé absolutní velikosti byli psi úspěšnější v rozlišení mezi předměty, které byly větší než menší stimuly. Vzhledem kde snížené zrakové ostrosti psa je možné, že tato zjištění odrážejí potíže s rozlišováním jemných detailů (Byosiere et al. 2018).

Zjištění naznačují, že při vhodném výcviku mohou psi rozlišovat mezi podněty na základě tvaru a velikosti. Jak však tyto rozdíly vnímají, zůstává neznámé (Byosiere et al. 2018). V našem případě psi rozlišovali mezi kyblíky, které měli průměr méně než o 5 % rozdílný, dá se tedy předpokládat, že při použití kyblíků s větším rozdílem průměrů, by psi byli úspěšnější v označení správného kyblíku.

Psi představují morfologicky nejrozmanitější druh, s výjimečnými systematickými variacemi mezi plemeny (Wayne et Ostrander 2007). Vzhledem k této skutečnosti je vhodné zvážit, zda mohl být výslek ovlivněn velkou variabilitou mezi hodnocenými plemeny psů. V neposlední řadě je pravděpodobné, že skrz značnou variabilitu hodnocené skupiny, by k získání relevantnějších výsledků bylo zapotřebí otestovat více jedinců.

7 Závěr

Cílem této práce bylo zjistit, zda bude mít podávání probiotik psům vliv na jejich kognitivní schopnosti konkrétně na rychlost a správnost jejich rozhodování a zlepšení krátkodobé paměti. V první fázi psi podstupovali nejprve kontrolní paměťový test, po kterém po dobu 30 dnů užívali buď probiotika, nebo placebo. Po uplynutí této doby byl v druhé fázy paměťový test zopakován a výsledky byly statisticky vyhodnoceny. Hodnotil se čas potřebný k dosažení řady pokusných kyblíků, počet pokusů potřebných k určení správné polohy kyblíku, počet pokusů potřebných k určení správné barvy kyblíku a čas potřebný k určení správného kyblíku.

Stanovená hypotéza nebyla potvrzena. Bylo zjištěno, že v případě užívání probiotik, obsahující bakterie *Enterococcus faeceum*, nedochází u psů k rozdílnému zlepšení paměti oproti placebu. Nicméně závěr je takový, to že psi při opakování paměťového testu po užívání probiotik nebo placeba dosáhli rychleji řady pokusných kyblíků. Mohlo být zapříčiněno předchozí zkušeností s danou testovou situací.

To, že se od sebe dané dvě skupiny nelišili, a efekt užívání probiotik nebyl patrný, lze vysvětlit z různých důvodů; nemuselo se jednat o vhodný druh probiotik, probiotika mohla být podávána v krátkém intervalu, výkon mohl být ovlivněn stresem nebo vizuálními schopnostmi psů.

Během experimentu byla použita probiotika s obsahem *Enterococcus faeceum.* Jejich účinnost na kognitivní schopnosti nebyla povrzena, je tedy vhodné zvážit využití odlišných bakterií, jako mohou být například některé kmeny rodu Lactobacillus nebo Bacteroides, které jsou přirozenou součástí psího mikroorganismu a byl u nich prokázán pozitivní účinek na kognitivní schopnosti u myší. U probiotik je také vhodné zvážit delší dobu jejich užívání.

Hodnotíci skupina psů vykazuje značnou variabilitu jedinců, tato skutečnost by mohla ovlivnit výsledek například odlišnými vizuálními schopnostmi jednotlivých plemen. Vzhledem k této skutečnosti je zapotřebí přemýšlet o využití méně variabilní skupiny. V neposlední řadě je pravděpodobné, že k získání přesnějších výsledků, kromě nižší variability testované skupiny psů, je zapotřebí otestovat více jedinců.

8 Literatura

Ambrosini YM, Borcherding D, Kanthasamy A, Kim HJ, Willette AA, Jergens A, Allenspach K, Mochel JP. 2019. The gut-brain axis in neurodegenerative diseases and relevance of the canine model: a review. Frontiers in Aging Neuroscience. **11**:130.

Amitay EL, Werner S, Vital M, Pieper DH, Höfler D, Gierse IJ, Butt J, Balavarca Y, Cuk K, Brenner H. 2017. Fusobacterium and colorectal cancer: causal factor or passenger? Results from a large colorectal cancer screening study. Carcinogenesis. **38**:781–788

Arif M, Alagawany M, Abd El-Hack ME, Saeed M, Arain MA, Elnesr SS. 2019. Humic acid as a feed additive in poultry diets: a review. Iranian Journal of Veterinary Research. **20**: 167–172.

Barrett E, Ross R, Fitzgerald G, Stanton C, Catherine Stanton C. 2012. c-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine.

Barrett E, Ross RP, O'Toole PW, Fitzgerald GF, Stanton C. 2012. γ-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. Journal of Applied Microbiology. **113**: 411–417.

Barrows GT, Deam BD. 1985. Using probiotics in small animals: a new approach. Veterinary Medicine (USA).

Barton K. 2022. Package 'MuMIn.' . Retrieved April 5, 2022, from https://cran.r-project.org/web/packages/MuMIn/index.html

Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S. 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. Journal of Statistical Software. **67**:1–48.

Batt LS, Batt MS, Baguley JA, McGreevy PD. 2008. Factors associated with success in guide dog training. Journal of Veterinary Behavior. **3**:143–151.

Baune BT, Wiede F, Braun A, Golledge J, Arolt V, Koerner H. 2008. Cognitive dysfunction in mice deficient for TNF- and its receptors. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics. **147**:1056–1064.

Bensky MK, Gosling SD, Sinn DL. 2013. The World from a Dog's Point of View: A Review and Synthesis of Dog Cognition Research. Advances in the Study of Behavior. **45**:209–406.

Benton D, Williams C, Brown A. 2007. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. European Journal of Clinical Nutrition. **61**:355–361.

Benyacoub J, Czarnecki-Maulden GL, Cavadini C, Sauthier T, Anderson RE, Schiffrin EJ, von der Weid T. 2003. Supplementation of Food with Enterococcus faecium (SF68) Stimulates Immune Functions in Young Dogs. The Journal of Nutrition. **133**:1158–1162.

Bercik P, Park AJ, Sinclair D, Khoshdel A, Lu J, Huang X, Deng Y, Blennerhassett PA, Fahnestock M, Moine D. 2011. The anxiolytic effect of Bifidobacterium longum NCC3001 involves vagal pathways for gut–brain communication. Neurogastroenterology & Motility. **23** :1132–1139.

Berntson GG, Sarter M, Cacioppo JT. 2003. Ascending visceral regulation of cortical affective information processing. The European Journal of Neuroscience. **18**:2103–2109.

Bienenstock J, Forsythe P, Karimi K, Kunze W. 2010. Neuroimmune aspects of food intake. International Dairy Journal. **20**.253–258.

Biourge V, Vallet C, Levesque A, Sergheraert R, Chevalier S, Roberton JL. 1998. The use of probiotics in the diet of dogs. The Journal of Nutrition. **128**:2730-2732.

Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J, Cryan JF. 2011. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. Proceedings of the National Academy of Sciences. **108**:16050–16055.

Buhot MC, Martin S, Segu L. 2000. Role of serotonin in memory impairment. Annals of Medicine. **32**:210–221.

Byosiere SE, Chouinard PA, Howell TJ, Bennett PC. 2018. What do dogs (Canis familiaris) see? A review of vision in dogs and implications for cognition research. Psychonomic Bulletin & Review. **25**:1798–1813.

Byosiere SE, Feng LC, Chouinard PA, Howell TJ, Bennett PC. 2017. Relational concept learning in domestic dogs: Performance on a two-choice size discrimination task generalises to novel stimuli. Behavioural Processes. **145**:93–101.

Císařovský M. 2008. Pes: nekonečný příběh od pravěku do třetího tisíciletí. Canis. Praha.

Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney RD, Shanahan F, Dinan TG, Cryan J. 2013. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. Molecular Psychiatry. **18**:666–673.

Collins SM, Surette M, Bercik P. 2012. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. Nature Reviews Microbiology. **10**:735–742.

Craig AD. 2002. How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. Nature Reviews Neuroscience. **3**:655–666.

Cryan JF, Dinan TG. 2012. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. Nature Reviews Neuroscience. **13**:701–712.

Cryan JF, Kaupmann K. 2005. Don't worry 'B' happy!: a role for GABAB receptors in anxiety and depression. Trends in Pharmacological Sciences. **26**:36–43.

Cryan JF., O KJ, Cowan CS, Sandhu K, Bastiaanssen STF, Boehme M, Codagnone MG, Cussotto S, Fulling C, Golubeva, A, Guzzetta KE, Jaggar, M, Long-Smith CM, Lyte, JM, Martin JA, Molinero-Perez A, Moloney G, Morelli E, Morillas E, Cruz-Pereira JS, Peterson, VL, Rea K, Ritz NL, Sherwin E, Spichak S, Teichman M, van de Wouw M, Paula Ventura-Silva A, Wallace-Fitzsimons SE, Hyland N, Clarke G, Dinan TG. 2019. The Microbiota-Gut-Brain Axis. Physiol Rev. **99**:1877–2013.

Cunha C, Brambilla R, Thomas K. 2010. A simple role for BDNF in learning and memory? Frontiers in Molecular Neuroscience. **3**.

Davari S, Talaei SA, Alaei H. 2013. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome–gut–brain axis. Neuroscience. **240**:287–296.

Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J, Dinan TG. 2008. The probiotic Bifidobacteria infantis: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. Journal of Psychiatric Research. **43**:164–174.

Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan T. 2010. Effects of the probiotic Bifidobacterium infantis in the maternal separation model of depression. Neuroscience. **170**:1179-1188.

Dinan TG, Cryan JF, Dinan TG, Cryan JF, Physiol J. 2017. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. The Authors. The Journal of Physiology C. **595**:489–503.

Ding S, Hu C, Fang J, Liu G. 2020. The Protective Role of Probiotics against Colorectal Cancer. Oxidative Medicine and Cellular Longevity.

Divyashri G, Krishna G, Prapulla SG. 2015. Probiotic attributes, antioxidant, anti-inflammatory and neuromodulatory effects of Enterococcus faecium CFR 3003: in vitro and in vivo evidence. Journal of Medical Microbiology. **64**:1527–1540.

Downing JEG, Miyan JA. 2000. Neural immunoregulation: emerging roles for nerves in immune homeostasis and disease. Immunology Today. **21**:281–289.

Drago, Panelli, Bandi, Zuccotti, Perini, D'Auria. 2019. What Pediatricians Should Know Before Studying Gut Microbiota. Journal of Clinical Medicine. **8.**

Emery DC, Shoemark DK, Batstone TE, Waterfall CM, Coghill JA, Cerajewska TL, Davies M, West NX, Allen SJ. 2017. 16S rRNA next generation sequencing analysis shows bacteria in Alzheimer's post-mortem brain. Frontiers in Aging Neuroscience. **9** :195.

Fiore M, Angelucci F, Alleva, E, Branchi I, Probert L, Aloe L. 2000. Learning performances, brain NGF distribution and NPY levels in transgenic mice expressing TNF-alpha. Behavioural Brain Research. **112**:165–175.

Forsythe P, Bienenstock J, Kunze WA. 2014. Vagal pathways for microbiome-brain-gut axis communication. Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease. 115–133.

Foster JA, Neufeld KAM. 2013. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. Trends in Neurosciences. **36**:305–312.

Fox J, Weisberg S, Price B, Adler D, Bates D, Baud-Bovy G, Bolker B, Ellison S, Firth D, Friendly M, Gorjanc G, Graves S, Heiberger R, Krivitsky P, Laboissiere R, Maechler M, Monette G, Murdoch D, Nilsson H, Ogle D, Ripley B, Venables W, Walker S, Winsemius D, Zeileis A. 2020. Package "car.". Retrieved from http://cran.r-project.org/web/packages/car/car.pdf

Frej D, Kuchař J. 2016. Zdravé střevo: komplexní prevence a terapie trávicích a střevních potíží a onemocnění. Eminent. Praha.

Fuller R. 1989. A review: probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology. **66**:365–378.

Garcia-Mazcorro J, Minamoto Y. 2013. Gastrointestinal microorganisms in cats and dogs: a brief review. Archivos de Medicina Veterinaria. **45**:111–124.

Gareau MG, Wine E, Rodrigues DM, Cho JH, Whary MT, Philpott DJ, MacQueen G, Sherman PM. 2011. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. Gut. **60**:307–317.

Gibson GR, Roberfroid MB. 1995. Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. The Journal of Nutrition. **125**:1401–1412.

Gordon S. 2008. Elie Metchnikoff: father of natural immunity. European Journal of Immunology. **38**:3257–3264.

Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, Yirmiya R. 2008. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. Molecular Psychiatry. **13**:717–728.

Grześkowiak Ł, Endo A, Beasley S, Salminen S. 2015. Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. Anaerobe. **34**:14–23.

Guo CF, Zhang LW, Han X, Yi HX, Li JY, Tuo YF, Zhang YC, Du M, Shan YJ, Yang L. 2012. Screening for cholesterol-lowering probiotic based on deoxycholic acid removal pathway and studying its functional mechanisms in vitro. Anaerobe. **18**:516–522.

Hao Q, Dong BR, Wu T. 2015. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. Cochrane Database of Systematic Reviews.

Havenaar R, ten Brink B, Huis JH. 1992. Selection of Strains for Probiotic Use in Probiotics.

He X, Zhao S, Li Y. 2021. *Faecalibacterium prausnitzii*: A Next-Generation Probiotic in Gut Disease Improvement. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology.

Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S. 2014. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. **11**:506.

Hobin JA, Ji J, Maren S. 2006. Ventral hippocampal muscimol disrupts context-specific fear memory retrieval after extinction in rats. Hippocampus. **16**:174–182.

Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Woolford J, Dean C, Kerr S, Culliford D, Perry VH. 2009. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. Neurology. **73**:768–774.

Honzák R. 2017. Psychosomatická prvouka. Vyšehrad. Praha.

Hryniewicz A, Bialuk I, Kamiński KA, Winnicka MM. 2007. Impairment of recognition memory in interleukin-6 knock-out mice. European Journal of Pharmacology. **577**:219–220.

Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, Codelli JA, Chow J, Reisman SE, Petrosino JF. 2013. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. Cell. **155**:1451–1463.

Hynie S, Klenerová V. 2010. [Neurobiology of memory]. Ceskoslovenska fysiologie. **59**:44–50.

Isolauri E, Salminen S, Ouwehand AC. 2004. Probiotics. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. **18**:299–313.

Jeong JJ, Kim KA, Ahn YT. 2015. Probiotic mixture KF attenuates age-dependent memory deficit and lipidemia in Fischer 344 rats. J Microbiol Biotechnol. 25:1532-1536.

Julianelle LA, Ebaugh FG. 1923. implantation of bacillus acidophilus in persons with psychoses. Archives of Neurology & Psychiatry. **9**:769–777.

Kim DH, Jeong D, Kang IB, Lim HW, Cho Y, Seo KH. 2019. Modulation of the intestinal microbiota of dogs by kefir as a functional dairy product. Journal of Dairy Science. **102**:3903–3911.

Kubinyi E, Rhali SB, Sándor S, Szabó A, Felföldi T. 2021 Gut Microbiome Composition is Associated with Age and Memory Performance in Pet Dogs.

Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. 2013. LmerTest: Tests for random and fixed effects for linear mixed effect models. R package, version 3.1-2. Retrieved from http://cran.rproject.org/web/packages/lmerTest/index.html

Langa S, Martín-Cabrejas I, Montiel R, Landete J, Medina M, Arqués J. 2014. Short communication: Combined antimicrobial activity of reuterin and diacetyl against foodborne pathogens. Journal of Dairy Science. **97**:6116–6121.

Liang S, Wang T, Hu X, Luo J, Li W, Wu X, Duan Y, Jin F. 2015. Administration of Lactobacillus helveticus NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. Neuroscience. **310**:561–577.

Liu J, Sun J, Wang F, Yu X, Ling Z, Li H, Zhang H, Jin J, Chen W, Pang M. 2015. Neuroprotective effects of Clostridium butyricum against vascular dementia in mice via metabolic butyrate. BioMed Research International.

Liu WH, Chuang HL, Huang YT, Wu CC, Chou GT, Wang S, Tsai YC. 2016. Alteration of behavior and monoamine levels attributable to Lactobacillus plantarum PS128 in germ-free mice. Behavioural Brain Research. **298**:202–209.

Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. 2012. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. Nature.

Lynch MA. 2004. Long-term potentiation and memory. Physiological Reviews. **84**:87–136.

Lyte M. 2011. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: microbial endocrinology in the design and use of probiotics. Bioessays. **33**:574–581.

Mackowiak PA. 2013. Recycling Metchnikoff: probiotics, the intestinal microbiome and the quest for long life. Frontiers in Public Health. **1**:52.

Manning TS, Gibson GR. 2004. Prebiotics. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. **18**:287–298.

Mantegazza C, Molinari P, D'auria E, Sonnino M, Morelli L, Zuccotti GV. 2018. Invited Review-pharmacology across disciplines Probiotics and antibiotic-associated diarrhea in children: A review and new evidence on Lactobacillus rhamnosus GG during and after antibiotic treatment. Pharmacological Research. **128**:63–72.

Marie Kosiewicz M, Iebba V, Zhu G, Wei H, Xie P, Huo R, Zeng B, Zeng L, Cheng K, Li B, Luo Y, Wang H, Zhou C, Fang L, Li W, Niu R. 2017. Microbiota Modulate Anxiety-Like Behavior and Endocrine Abnormalities in Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. **7**:489.

Mayer E. A. 2011. Gut feelings: the emerging biology of gut–brain communication. Nature Reviews Neuroscience. **12**: 453–466.

Mayer EA. 2018. Druhý mozek: naše pocity, rozhodování, zdraví a pohoda procházejí střevem. Paseka. Praha.

McAfoose J, Baune BT. 2009. Evidence for a cytokine model of cognitive function. Neuroscience & Biobehavioral Reviews. **33**:355–366.

McEntee WJ, Crook TH. 1991. Serotonin, memory, and the aging brain. Psychopharmacology. **103**:143–149.

Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, Javelot H, Desor D, Nejdi A, Bisson JF, Rougeot C, Pichelin M, Cazaubiel M. 2011. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (Lactobacillus helveticus R0052 and Bifidobacterium longum R0175) in rats and human subjects. British Journal of Nutrition. **105**:755–764.

Miller PE, Murphy CJ. 1995. dogs VIN. Vision in dogs. J Am Vet Med Assoc. **207**:1623–1634.

Mizukami K, Uchiyama J, Igarashi H, Murakami H, Osumi T, Shima A, Ishiahra G, Nasukawa T, Une Y, Sakaguchi M. 2019. Age-related analysis of the gut microbiome in a purebred dog colony. FEMS Microbiology Letters. **366**.

Montiel-Castro A, González-Cervantes R, Bravo-Ruiseco G, Pacheco-Lopez G. 2013. The microbiota-gut-brain axis: neurobehavioral correlates, health and sociality. Frontiers in Integrative Neuroscience. **7**:70.

Mowat FM, Petersen-Jones SM, Williamson H, Williams DL, Luthert PJ, Ali RR, Bainbridge JW. 2008. Topographical characterization of cone photoreceptors and the area centralis of the canine retina. Molecular Vision. **14**:2518–2527.

Mueller NT, Zhang M, Juraschek SP, Miller 3rd ER, Appel LJ. 2020. Effects of high-fiber diets enriched with carbohydrate, protein, or unsaturated fat on circulating short chain fatty acids: results from the OmniHeart randomized trial. The American Journal of Clinical Nutrition. **111**:545–554.

Murphy DL, Lerner A, Rudnick G, Lesch KP. 2004. Serotonin transporter: gene, genetic disorders, and pharmacogenetics. Molecular Interventions. **4**:109.

Nadel L, Moscovitch M. 1997. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. Current Opinion in Neurobiology. **7**:217–227.

Neitz J, Geist T, Jacobs GH. 1989. Color vision in the dog. Visual Neuroscience. **3**:119–125.

Nicholls JG. 2013. Od neuronu k mozku. Academia. Praha.

Ohland CL, Kish L, Bell H, Thiesen A, Hotte N, Pankiv E, Madsen KL. 2013. Effects of Lactobacillus helveticus on murine behavior are dependent on diet and genotype and correlate with alterations in the gut microbiome. Psychoneuroendocrinology. **38**:1738–1747.

Ohland C, MacNaughton W. 2010. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology. **298**:7-19.

O'mahony SM, Clarke G, Borre YE, Dinan TG, Cryan JF. 2015. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. Behavioural Brain Research. **277**:32–48.

O'Sullivan E, Barrett E, Grenham S, Fitzgerald P, Stanton C, Ross R, Quigley E, Cryan J, Dinan T. 2011. BDNF expression in the hippocampus of maternally separated rats: does Bifidobacterium breve 6330 alter BDNF levels? Beneficial Microbes. **2**:199–207.

Patterson E, Cryan JF, Fitzgerald GF, Ross RP, Dinan TG, Stanton C. 2014. Gut microbiota, the pharmabiotics they produce and host health.

Pilla R, Suchodolski JS. 2020. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. Frontiers in Veterinary Science. **6**:498.

Pilla R, Suchodolski JS. 2021. February 27 The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice. W.B. Saunders.

Polizopoulou Z, Giordano A, Pugliese M, Pilla R, Suchodolski JS. 2020. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. Frontiers in Veterinary Science. **1**:498.

Pollmächer T, Haack M, Schuld A, Reichenberg A, Yirmiya R. 2002. Low levels of circulating inflammatory cytokines—Do they affect human brain functions? Brain, Behavior, and Immunity. **16**:525–532.

R Development Core Team 2021. A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria. R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from https://www.r-project.org/

Rao AV, Bested AC, Beaulne TM, Katzman MA, Iorio C, Berardi JM, Logan AC. 2009. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. Gut Pathogens. **1**:6.

Reid G. 2016. , February 1 Probiotics: Definition, scope and mechanisms of action. Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology. Bailliere Tindall Ltd.

Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, Mele MC. 2019. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. Microorganisms. **7**.

Roy CC, Kien CL, Bouthillier L, Levy E. 2006. Short-Chain Fatty Acids: Ready for Prime Time? Nutrition in Clinical Practice. **21**:351–366.

Samuel D. 2002. Paměť: (jak ji používáme, ztrácíme a můžeme zlepšit). Grada. Praha.

Savignac HM, Kiely B, Dinan TG, Cryan JF. 2014. B ifidobacteria exert strain-specific effects on stress-related behavior and physiology in BALB/c mice. Neurogastroenterology & Motility. **26**:1615–1627.

Sharon G, Sampson TR, Geschwind DH, Mazmanian SK. 2016. The Central Nervous System and the Gut Microbiome. Cell. **167**:915–932.

Sherwin E, Rea K, Dinan TG, Cryan JF. 2016. A gut (microbiome) feeling about the brain. Current Opinion in Gastroenterology. **32**.

Shisov VA, Kirovskaya TA, Kudrin VS, Oleskin A. 2009. Amine Neuromediators, Their Precursors, and Oxidation Products in the Culture of Escherichia coli K-12. Applied Biochemistry and Microbiology. **45**:494–497.

Singh B. 2007. Psyllium as therapeutic and drug delivery agent. International Journal of Pharmaceutics. **334**:1–14.

Singh PK, Chopra K, Kuhad A, Kaur IP. 2012. Role of Lactobacillus acidophilus loaded floating beads in chronic fatigue syndrome: behavioral and biochemical evidences. Neurogastroenterology & Motility. **24**:366-170.

Sjögren K, Engdahl C, Henning P, Lerner UH, Tremaroli V, Lagerquist MK,Bäckhed F, Ohlsson C. 2012. The gut microbiota regulates bone mass in mice. Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research. **27**:1357–1367.

Smith CJ, Emge JR, Berzins K, Lung L, Khamishon R, Shah P, Rodrigues DM, Sousa AJ, Reardon C, Sherman PM. 2014. Probiotics normalize the gut-brain-microbiota axis in immunodeficient mice. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. **307**:793–802.

Squire L. 1987. Memory and Brain Oxford University Press: New York. NY.

Stilling RM, Ryan FJ, Hoban AE, Shanahan F, Clarke G, Claesson MJ, Dinan TG, Cryan JF. 2015. Microbes & neurodevelopment–Absence of microbiota during early life increases activity-related transcriptional pathways in the amygdala. Brain, Behavior, and Immunity. **50**:209–220.

Strandwitz P. 2018. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. Brain Research. **1693**:128–133.

Tredgold AF. 1922. The defective delinquent and insane. The Eugenics Review. **14**:195–196.

Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherdyntseva TA, Netrusov AI. 2006. Hormones and Hormone-Like Substances of Microorganisms: A Review. Applied Biochemistry and Microbiology. **42**:261–268.

Veselovský Z. 2005. Etologie: biologie chování zvířat. Academia. Praha.

Wahl JM, Herbst SM, Clark LA, Tsai KL, Murphy KE. 2008. A review of hereditary diseases of the German shepherd dog. Journal of Veterinary Behavior. **3**:255–265.

Wang H, Lee IS, Braun C, Enck P. 2016. Effect of probiotics on central nervous system functions in animals and humans: a systematic review. Journal of Neurogastroenterology and Motility. **22**:589.

Wang T, Hu X, Liang S, Li W, Wu X, Wang L, Jin F. 2015. Lactobacillus fermentum NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats. Beneficial Microbes. **6**:707–717.

Wayne RK, Ostrander EA. 2007. Lessons learned from the dog genome. Trends in Genetics. **23**:557–567.

Winkle M, Crowe TK, Hendrix I. 2012. Service dogs and people with physical disabilities partnerships: A systematic review. Occupational Therapy International. **19**:54–66.

Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, Sinha R, Gilroy E, Gupta K, Baldassano R, Nessel L, Li H, Bushman FD, Lewis JD. 2011. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. Science. **334**.

Zeng MY, Inohara N, Nuñez G. 2017. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut.

9 Seznam použitých zkratek a symbolů

CNS – centrální nervová soustava
BMI – index tělesné hmotnosti
IBD – zánětlivé onemocnění střev
CDAD – kolitida vyvolaná *Clostridium difficille*
GIT – gastroitestinální trakt
HPA – Hypotalamo hypofýzo nadlevinková
SCFA – mastné kyseliny s krátkým řetězcem
GABA – kyselina gama-aminomáselna
5-HT - 5-hydroxytryptamin (serotonin)
GF – germ free (bezmikrobní)
TNF – tumor nekrotizující faktor
SERT – transportér serotoninu
BNDF – mozkový neurologický faktor
DA – dopamin