

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Role probiotických bakterií v trávicím traktu člověka

Bakalářská práce

Autor práce: Andrea Wagnerová

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: Ing. Ivo Doskočil, Ph.D.

Konzultant: Ing. Veronika Jarošová

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Role probiotických bakterií v trávicím traktu člověka" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské 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 bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20. 4. 2018

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu mé práce, Ing. Ivo Doskočilovi, Ph.D., za odborné vedení a cenné rady. Rovněž bych ráda poděkovala Ing. Veronice Jarošové za její trpělivost a vstřícnost při konzultacích a práci v laboratoři. Velký dík za podporu nejen při psaní této práce, ale v průběhu celého studia náleží také mé rodině a přátelům.

Role probiotických bakterií v trávicím traktu člověka

Souhrn

Probiotika jsou živé mikroorganismy, které jsou při příjmu v přiměřeném množství zdraví prospěšné pro hostitele. S jejich pomocí lze zmírňovat projevy celé řady poruch zejména trávicího traktu souvisejících se střevní dysbiózou nebo těmto onemocněním předcházet. V trávicím traktu jsou probiotika vystavena mnoha nepříznivým vlivům, jež mají dopad na jejich životaschopnost, a tím i probiotickou aktivitu. Velký počet studií zabývajících se probiotiky se proto věnuje způsobům, jak životaschopnost těchto prospěšných bakterií zvýšit.

V experimentální části práce byla zkoumána životaschopnost vybraných laktobacilů (*Lactobacillus brevis*, *L. gasseri* a *L. plantarum*) a patogenů (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica* a *Salmonella* sp.) v *in vitro* modelu trávicího traktu. Nárůst nebo pokles počtu životaschopných bakterií byl zjištěn porovnáním počtu živých buněk před a po procesu *in vitro* trávení. Počty bakterií byly zjištěny metodou fluorescence. Použité fluorescenční barvivo propidium iodid barví DNA mrtvých buněk, k získání celkového počtu buněk proto byla část vzorků před a po simulovaném procesu trávení usmrcena. Počet živých buněk byl poté získán jako rozdíl celkového počtu buněk a počtu mrtvých buněk ve vzorku.

Zjištěné hodnoty životaschopnosti laktobacilů byly velmi podobné. U *L. brevis* bylo po trávení $14,75 \pm 5,85$ % živých buněk, u *L. gasseri* $14,76 \pm 4,42$ % živých buněk a u *L. plantarum* $12,76 \pm 1,91$ % živých buněk. Všechny patogeny vykazovaly oproti laktobacilům velmi vysokou schopnost přežít průchod trávicím traktem a zároveň u nich vzrostl celkový počet buněk. U *E. coli* bylo po trávení živých $98,73 \pm 1,23$ % buněk a celkový počet buněk vzrostl 2,4×. *S. enterica* vykazovala po trávení dokonce 3,4násobný nárůst počtu buněk a živých bylo $98,55 \pm 1,56$ % buněk. U *Salmonella* sp. byl zaznamenán 2,4násobný nárůst počtu buněk a $98,23 \pm 1,98$ % jich bylo živých.

Životaschopnost vybraných laktobacilů se nelišila, mezi životaschopností laktobacilů a patogenů však byly zjištěny výrazné rozdíly. Tyto rozdíly byly pravděpodobně způsobeny odlišnou tolerancí bakterií vůči kyselinám a žluči.

Klíčová slova: probiotika, prebiotika, mikrobiota, trávicí soustava člověka, *in vitro* model trávicí soustavy

The role of probiotic bacteria in the human digestive system

Summary

Probiotics are live microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. They can help with alleviation of a whole range of digestive tract disorders related to intestinal dysbiosis or prevent these diseases. However, probiotics are exposed to many adverse conditions that affect their viability and thereby probiotic activity. Therefore, a myriad of studies on probiotics investigate ways to increase the viability of these beneficial bacteria.

The experimental part of the thesis examined the viability of selected lactobacilli (*Lactobacillus brevis*, *L. gasseri* and *L. plantarum*) and pathogens (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Salmonella* sp.) in *in vitro* model of the human digestive tract. The increase or decrease in the number of viable bacteria was defined by comparing the number of living cells before and after the *in vitro* digestion. The numbers of bacteria were obtained using a fluorescence method. The selected fluorescent dye propidium iodide stains dead cell DNA; to obtain the total number of cells, a part of the samples was killed before and after the process of simulated digestion. Then, the number of living cells was determined as the difference in the total number of cells and the number of dead cells in the sample.

The values of viability among lactobacilli were very similar. For *L. brevis*, there were 14.75 ± 5.85 % living cells after digestion, for *L. gasseri* 14.76 ± 4.42 % living cells, and for *L. plantarum* 12.76 ± 1.91 % living cells. However, a significant difference was found between the viability of lactobacilli and pathogens. All pathogens demonstrated an exceedingly high ability to survive passage through the digestive tract while increasing the total number of cells at the same time. For *E. coli*, 98.73 ± 1.23 % cells were alive after digestion and the total number of cells was 2.4 times higher. *S. enterica* showed even a 3.4-fold increase in the total number of cells after digestion and 98.55 ± 1.56 % cells were alive. For *Salmonella* sp., there was a 2.4-fold increase in the number of cells and 98.23 ± 1.98 % of them were alive.

Although the results show that the viability of the selected lactobacilli did not differ, significant differences were found between the viability of lactobacilli and pathogens. These differences were probably due to different tolerance of bacteria to acids and bile.

Keywords: probiotics, prebiotics, microbiota, human digestive tract, *in vitro* model of the human digestive system

Obsah

1 Úvod.....	3
2 Cíl práce	4
2.1 Hypotéza	4
2.2 Cíl práce.....	4
3 Literární rešerše	5
3.1 Trávicí soustava člověka	5
3.1.1 Funkce trávicí soustavy	5
3.1.2 Gastrointestinální trakt.....	6
3.1.3 Přídavné orgány	12
3.1.4 Onemocnění trávicí soustavy.....	14
3.2 Mikrobiom trávicí soustavy	16
3.2.1 Mikrobiom dutiny ústní	16
3.2.2 Mikrobiom žaludku.....	17
3.2.3 Střevní mikrobiom	17
3.2.4 Vliv stravy na mikrobiom	20
3.3 Patogeny v trávicím traktu člověka.....	21
3.4 Probiotika, prebiotika, synbiotika.....	24
3.4.1 Probiotika.....	24
3.4.2 Vlastnosti probiotik.....	27
3.4.3 Význam probiotik	28
3.4.4 Prebiotika	30
3.4.5 Synbiotika	31
3.5 In vitro modely trávicí soustavy	32
3.5.1 Statické in vitro modely	32
4 Materiál a metody	35
4.1 Materiál.....	35
4.2 Metody	35
4.2.1 Příprava bakteriální suspenze	35
4.2.2 In vitro model trávicí soustavy	35
4.2.3 Měření fluorescence.....	37
4.2.4 Statistická analýza.....	37
5 Výsledky	38
6 Diskuze	40
7 Závěr.....	45
8 Seznam literatury	46

9 Seznam použitých zkratk	57
10 Seznam obrázků, tabulek a grafů	58

1 Úvod

Trávicí trakt člověka je kolonizován značným množstvím mikroorganismů. Jejich výskyt je v jednotlivých oddílech trávicího traktu různý. Složení gastrointestinálního mikrobiomu je do značné míry individuální a v průběhu života proměnné, což je dáno jak fyziologicky, tak působením vnějších faktorů. Mezi tyto faktory patří, mimo jiné, například způsob porodu, druh mateřské výživy, strava, věk, léky, genetické predispozice a stres.

Význam mikrobiomu spočívá především v jeho vlivu na správnou činnost trávicího traktu a celkové zdraví organismu. Zejména střevní mikrobiom hraje zásadní roli ve vytváření vrozené i získané imunity, a proto bývají změny v jeho složení spojovány se vznikem a rozvojem mnoha onemocnění. Důsledkem střevní dysbiózy je například zvýšení výskytu zánětlivého onemocnění střev, celiakie, astmatu či alergických onemocnění. Dále může dysbióza ovlivňovat motilitu střev, trávení živin či citlivost na insulin.

Světová zdravotnická organizace (WHO, 2006) definuje probiotika jako živé mikroorganismy, které při podávání v přiměřeném množství příznivě ovlivňují zdraví svého hostitele. Nejčastěji využívanými probiotickými bakteriemi jsou rody *Lactobacillus* spp. a *Bifidobacterium* spp., které se běžně vyskytují v trávicím traktu člověka. Probiotika zmírňují alergické reakce, zácpu či průjem a mají imunostimulační účinky. Mezi další terapeutické účinky patří zvýšení peristaltiky střev, následné zlepšení trávení, a tím i prevence vzniku kolorektálního karcinomu. Často se také mohou podílet na snižování hladiny krevního cholesterolu, zmírnění laktózové intolerance, snížení hepatotoxicity látek či regulaci hypertenze. Hlubší poznání vlastností a funkcí probiotických mikroorganismů je proto podstatné pro prevenci a zlepšení léčby mnoha onemocnění.

2 Cíl práce

2.1 Hypotéza

Některé rody laktobacilů mají vyšší schopnost přežít průchod trávicím traktem než ostatní.

2.2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce je v teoretické části zpracování literární rešerše zaměřené na mikrobiotu trávicí soustavy člověka a probiotika, s důrazem na vliv podmínek v trávicím traktu na životaschopnost bakterií. Dále bude rešerše zaměřena na *in vitro* modely trávicí soustavy. V praktické části budou provedeny testy životaschopnosti laktobacilů po průchodu *in vitro* modelem trávicího traktu.

3 Literární rešerše

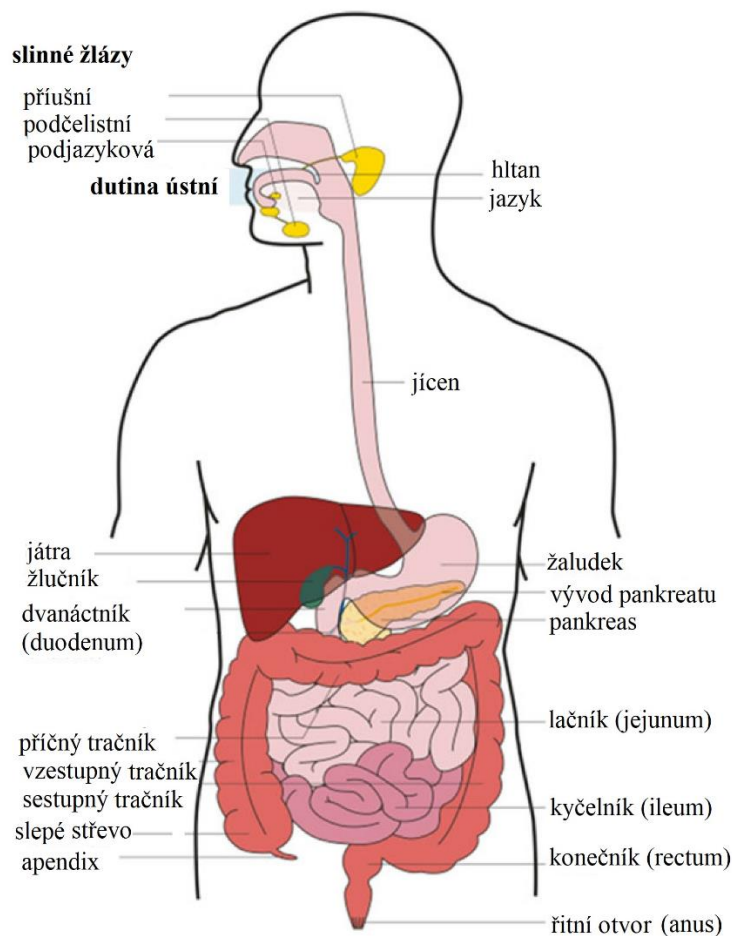
3.1 Trávicí soustava člověka

3.1.1 Funkce trávicí soustavy

Trávicí soustava zajišťuje v lidském těle řadu funkcí. Hlavními z nich jsou příjem, rozmělnění a trávení potravy a vylučování odpadních látek (Parker et Winston, 2007). Trávicí soustava se také podílí na imunitě organismu a dochází zde k sekreci endokrinně aktivních látek (Kittnar, 2011). Termín „trávení“ zahrnuje procesy, při kterých dochází k mechanickému a chemickému rozložení potravy a následné absorpci živin buňkami. Při mechanickém zpracování se potrava rozkládá na menší části bez změny chemického složení, zatímco při chemickém rozkladu se biopolymery přeměňují na nízkomolekulární látky (Shier et al., 2015). Ty pomocí pasivního nebo aktivního transportu prostupují přes střevní sliznici a dostávají se do krve a lymfy (Ganong, 2005). K tomu je třeba řada trávicích enzymů, které jsou produkovány přídatnými orgány (Rehfeld et al., 2017).

Samotná činnost trávicí soustavy je regulována prostřednictvím nervového a endokrinního řízení. Nervové řízení zajišťují vlastní nervový systém, sympatikus a parasympatikus. Endokrinní řízení probíhá působením hormonů. Rovněž přijatá potrava řídí činnost trávicí soustavy tím, že mechanicky i chemicky působí na orgán. Ten po podráždění vysílá nervový impuls vedoucí k vyloučení enzymu (Kittnar, 2011).

Trávicí soustava (Obr. 1) je tvořena dlouhou trubicí a přídatnými orgány, které do ní vylučují látky potřebné k trávení (Parker et Winston 2007; Shier et al., 2015). Gastrointestinální trakt (GIT) začíná dutinou ústní, pokračuje hltanem, jícnem, žaludkem, tenkým střevem, tlustým střevem, konečníkem a končí řitním otvorem. Mezi přídatné orgány, jejichž vývody ústí do trávicí trubice, patří slinné žlázy, játra, žlučník a slinivka břišní (Shier et al., 2015; Marieb et al., 2017).



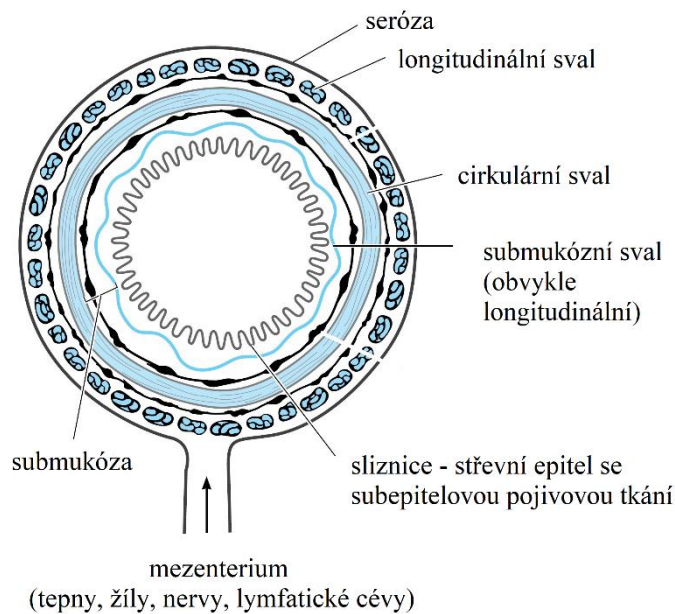
Obrázek 1: Stavba trávicí soustavy (upraveno podle Verhoeckx et al., 2015)

3.1.2 Gastrointestinální trakt

Stěna GIT se skládá ze čtyř vrstev, kterými jsou sliznice (mukóza), podslizniční vazivo (submukóza), svalovina a seróza (Obr. 2). Základní čtyřvrstvá struktura je zachována v celé trubici, v jejích jednotlivých částech je však specializována pro danou funkci (Parker et Winston, 2007).

Nejvnitřnější částí stěny je sliznice, která má ochrannou, vylučovací (obsahuje žlázy vylučující hlen a trávicí enzymy) a absorpční (vstřebává látky z potravy) funkci. V některých částech trávicí trubice je sliznice zřasená, čímž se zvyšuje absorpční povrch (Shier et al., 2015). Podslizniční vazivo (submukóza) obsahuje žlázy, krevní a lymfatické cévy a nervy. Cévy podslizničního vaziva vyživují okolní tkáň a odvádějí absorbované látky. Pohyb trávicí trubice zajišťuje svalovina, která se skládá ze dvou vrstev hladké svaloviny. Když se kontrahuje vnitřní cirkulární vrstva, zmenšuje se průměr trubice. Pokud dochází ke kontrakci vnější svalové

vrstvy, jejíž buňky leží podélně, trubice se zkracuje. Pohyb potravy trávicí trubicí je pak umožněn koordinovanými kontrakcemi obou svalových vrstev. Seróza, tvořící vnější stranu trubice, chrání pod ní ležící tkáně a vylučuje tekutinu, díky které mohou orgány břišní dutiny volně klouzat proti sobě (Shier et al., 2015). Seróza pokračuje na mezenterium, ve kterém jsou nervy, krevní cévy, které vyživují trávicí trakt, a lymfatické cévy (Ganong, 2005).



Obrázek 2: Schematické znázornění vrstev stěny GIT (upraveno podle Ganong, 2005)

Ústní dutina se skládá z měkkého a tvrdého patra, čípku, jazyka, dásní a zubů (Parker et Winston, 2007). Umožňuje příjem potravy, její mechanické rozdrčení zuby a jazykem a smísení se slinami. V dutině ústní se nacházejí mechanoreceptory a termoreceptory, na jazyku pak chuťové receptory. Všechny receptory spolu s čichem zprostředkovávají vnímání chuti. Informace týkající se chuti může jednak zabránit požití potravy nebo připravit následující části trávicí soustavy na její příjem a trávení (Kittnar, 2011). V ústní dutině se začíná štěpit škrob účinkem enzymu slinné α -amylázy (ptyalinu) a začínají se zde trávit tuky účinkem slinné lipázy. Dále sliny obsahují hydrogenuhličitanový pufr, který neutralizuje kyseliny produkované bakteriemi v ústech, čímž částečně zabraňuje vzniku zubního kazu. Ve slinách jsou také baktericidní enzymy, antivirové látky a protilátky, které všechny ničí škodlivé mikroorganismy v ústní dutině (Marieb et al., 2017).

Na ústní dutinu navazuje hltan (pharynx), což je přibližně 13 cm dlouhá trubice, ze které se peristaltickou vlnou potrava dostává do jícnu (oesophagu) (Parker et Winston, 2007). Jícen

je svalová trubice, kterou prochází potrava peristaltickou vlnou z hltnu do žaludku. Je tvořen dvěma svěrači. Horní svěrač znemožňuje, aby se při vdechu dostal do jícnu vzduch, dolní svěrač zabraňuje refluxu acidního žaludečního obsahu do jícnu, čímž by mohlo dojít k poškození jeho sliznice. Aktivní tonus dolního jícnového svěrače povolí při polykání (Kittnar, 2011; Marieb et al., 2017).

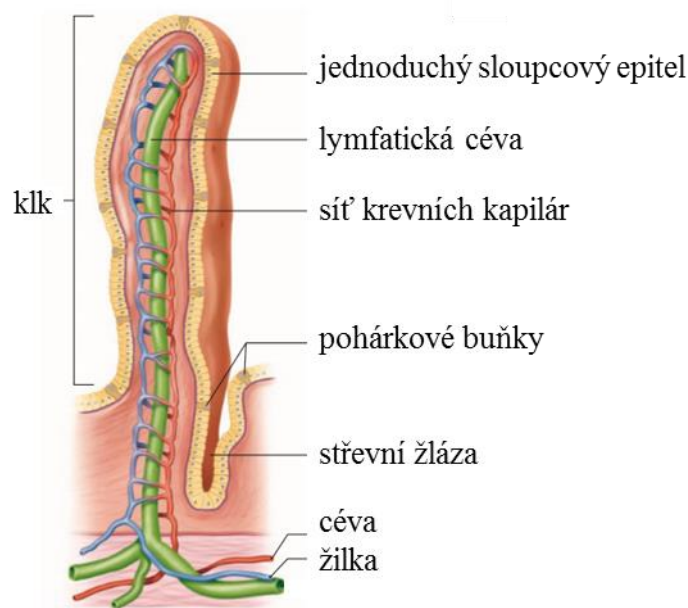
Jícen vstupuje do žaludku, který tvoří nejširší část GIT a má tvar písmene „J“ (Parker et Winston, 2007). V žaludku dochází denně k sekreci 2-3 litrů žaludeční šťávy, která obsahuje trávicí enzymy (pepsin, lipázu), kyselinu chlorovodíkovou, kationty (sodný, draselný, hořečnatý, vodíkový), anionty (chloridový, hydrogenfosforečnanový, síranový), hlen a vnitřní faktor (glykoprotein nutný pro resorpci cyanokobalaminu, vitamínu B₁₂, z tenkého střeva). Kyselina chlorovodíková likviduje většinu bakterií pozřených s potravou, vytváří vhodné pH pro aktivaci pepsinogenu na pepsin a následné trávení proteinů a podněcuje sekreci žluči a pankreatické šťávy (Ganong, 2005; Parker et Winston, 2007; Marieb et al., 2017). Hlen, tvořený glykoproteinem mucinem, pokrývá sliznici žaludku, a tím ji chrání před jejím natrávením koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Potrava se v žaludku promíchává s kyselinou chlorovodíkovou, hlenem a pepsinem díky smršťování hladké svaloviny a vzniklý chymus (trávenina) poté řízeně odchází po částech do duodena (Ganong, 2005).

V žaludku začíná trávení bílkovin, při kterém jsou peptidové vazby štěpeny enzymy pepsiny. Ty jsou vylučovány jako neaktivní proenzymy pepsinogenu a k jejich aktivaci dochází působením nízkého pH v žaludku, které je zajištěno přítomností kyseliny chlorovodíkové. Nejvhodnější pH pro aktivitu pepsinů je přibližně v rozmezí 1,6–3,2. Pepsiny štěpí vazby mezi aromatickou aminokyselinou a vedlejší nearomatickou aminokyselinou, čímž vznikají různé dlouhé polypeptidy (Ganong, 2005).

Ačkoli je většina živin vstřebána až v tenkém střevě, některé látky (jako alkohol, některé léky, elektrolyty, voda) jsou vstřebány už v žaludku. Žaludek se vyznačuje značnou roztažností s možností se až 3× roztáhnout na přibližně 4 litry. Na vnitřním povrchu prázdného žaludku se nacházejí podélné záhyby sliznice, které se při jeho zaplňování zplošťují, čímž se objem přizpůsobuje množství potravy (Marieb et al., 2017). Potrava v žaludku setrvává přibližně 4 hodiny, v závislosti na jejím složení a množství. Potrava s převahou sacharidů je v žaludku nejkratší dobu, delší dobu v něm je potrava bílkovinná a nejdéle v žaludku setrvávají tuky (Kittnar, 2011; Marieb et al., 2017).

Následně se trávenina přesouvá do tenkého střeva, tvořícího až 75 % celkové délky trávicí trubice. Probíhá zde další chemický rozklad potravy a vstřebávání živin do krve a lymfy. (Trojan et Schreiber, 2002). Jeho stěna se skládá ze čtyř vrstev: sliznice, podslizniční vaziva,

svaloviny a serózy. Vnitřní vrstva stěny je sliznice, která je poskládaná v řasy s výběžky – klky (Parker et Winston, 2007). Buňky epitelu klků mají na svém povrchu mikroklky, které vytvářejí tzv. kartáčový lem enterocytů (slizničních buněk tenkého střeva), jenž zvětšuje absorpční plochu sliznice (Ganong, 2005). V každém klku je lymfatická céva a velmi tenké krevní cévy (Obr. 3), díky čemuž přecházejí některé živiny do lymfy a jiné do krve, kterou jsou transportovány do jater (Parker et Winston, 2007). Podslizniční vazivo obsahuje cévy a nervy. Svalovina je tvořena vnějšími podélnými a vnitřními cirkulárními hladkými svalovými vlákny. Seróza vytváří vnější vrstvu stěny, má ochrannou funkci (Parker et Winston, 2007).



Obrázek 3: Struktura střevního klku (upraveno podle Shier et al., 2015)

Tenké střevo se dělí na tři hlavní části: dvanáctník (duodenum), lačník (jejunum) a kyčelník (ileum). Do duodena, nejdůležitější a zároveň nejkratší části tenkého střeva, vstupuje chymus ze žaludku, žluč z jater a trávicí šťávy z pankreatu. Duodenum je dlouhé asi 25 centimetrů, jejunum 2 až 2,5 metru a ileum až 3,5 metru. Záhyby tenkého střeva tvoří značnou část dutiny břišní. Potrava je ve střevě mísená segmentačními pohyby a posunována peristaltickými pohyby (Parker et Winston, 2007).

V tenkém střevě dochází k trávení živin z potravy. Hydrolýzou α -1,4 vazeb slinnou a pankreatickou α -amylázou jsou ve střevě štěpeny polysacharidy. Vazby α -1,6, α -1,4 na koncích molekul a α -1,4 vedle místa větvení však tyto enzymy štěpit nedokáží. Štěpením α -amylázou vznikají oligosacharidy, konkrétně disacharid maltóza, trisacharid maltotrióza a α -dextriny. Ty jsou dále štěpeny oligosacharidázami, jež jsou obsaženy v kartáčovém lemu

enterocytů. Oligosacharidáza izomaltáza hydrolyzuje α -1,6 vazby. Izomaltáza, maltáza a sacharáza štěpí maltózu a maltotriózu na molekuly glukózy. Sacharáza hydrolyzuje sacharózu na molekulu glukózy a molekulu fruktózy. V kartáčovém lemu enterocytů je také disacharidáza laktáza, jež štěpí laktózu na glukózu a galaktózu. Pentózy a hexózy jsou resorbovány stěnou tenkého střeva v kapilárách ústících do vrátnicové žíly vedoucí do jater (Koolman et Röhm, 2012; McKee et McKee, 2014).

V tenkém střevě také pokračuje trávení polypeptidů vzniklých štěpením v žaludku. Ke štěpení v tenkém střevě dochází působením proteolytických enzymů slinivky břišní a střevní sliznice. Trypsin, chymotrypsin a elastáza jsou endopeptidázy, štěpí tedy vnitřní peptidové vazby. Naproti tomu pankreatické karboxypeptidázy jsou exopeptidázy hydrolyzující aminokyseliny z konce polypeptidu. Aminokyseliny uvolněné z peptidů vstupují do vrátnicové žíly. Bílkoviny nestrávené a nevstřebané v tenkém střevě (přibližně pouze 2–5 % bílkovin) jsou rozloženy činností bakterií ve střevě tlustém. Bílkoviny obsažené ve stolici tedy nemají původ v nestrávené potravě, ale jedná se o bakteriální proteiny a proteiny degradovaných buněk (Ganong, 2005; Koolman et Röhm, 2012).

V tenkém střevě jsou rovněž tráveny nukleové kyseliny, které jsou štěpeny pankreatickými nukleázami na nukleotidy. Nukleotidy se dále štěpí na kyselinu fosforečnou a nukleosidy, které se následně rozkládají na purinové a pyrimidinové báze a cukernou část. Nukleové báze jsou vstřebány aktivním transportem (Koolman et Röhm, 2012; McKee et McKee, 2014).

Většina tuků se začíná trávit v duodenu. Hlavním enzymem je pankreatická lipáza, která štěpí vazby v triacylglycerolech. Vazby 1 a 3 jsou hydrolyzovány snáze než vazba 2, a proto hydrolyzou vznikají volné mastné kyseliny a 2–monoacylglyceroly. Pankreatická lipáza působí jen na emulgované lipidy. K emulgaci dochází činností solí žlučových kyselin, lecitinu a monoacylglycerolů. Pokud je ve střevě vysoký obsah solí žlučových kyselin, navzájem se váží s lipidy, čímž se tvoří micely. Hydrofobní jádra micel obsahují mastné kyseliny, monoacylglyceroly a cholesterol. Micely se dostávají ke kartáčovému lemu buněk sliznice, kde lipidy pronikají vně micel. Mastné kyseliny kratší než 10–12 atomů uhlíku prostupují ze slizničních buněk rovnou do vrátnicové žíly. Mastné kyseliny s více než 10–12 atomy uhlíku jsou ve slizničních buňkách znovu esterifikovány na triacylglyceroly, stejně jako určitý díl cholesterolu je esterifikován na cholesterylestery. Připojením vrstvy proteinů, cholesterolu a fosfolipidů na triacylglyceroly a cholesterylestery vznikají chylomikrony, jež pronikají do krevního oběhu lymfatickými cévami (Ganong, 2005; Koolman et Röhm, 2012).

Poslední částí trávicího traktu je tlusté střevo. Je přibližně 1,5 m dlouhé a ve srovnání se střevem tenkým má slabší stěnu. Jeho sliznice tak, na rozdíl od tenkého střeva, nevytváří klky, má však vyklenutí – haustra. Tlusté střevo začíná slepým střevem (caecum), ze kterého odstupuje červovitý výběžek (appendix vermiformis). Za slepým střevem následuje vzestupný tračník (colon ascendens), příčný tračník (colon transversum), sestupný tračník (colon descendens), esovitý tračník (colon sigmoideum) a konečník (rectum). Rectum má dva svěrače – vnitřní z hladké svaloviny, který je vůlí neovladatelný, a vnější z příčně pruhované svaloviny (Trojan et Schreiber, 2002).

V tlustém střevě nedochází k sekreci trávicích enzymů, produkuje se zde však alkalický sekret tvořený vodou, hlenem a elektrolyty. Nejvýznamnějším elektrolytem je hydrogenuhličitanový iont, jehož funkcí je neutralizace acidních bakteriálních produktů (Kittnar, 2011).

Základními funkcemi tlustého střeva jsou dokončení resorpce látek a zároveň zahuštění tekutého chymu, čímž vzniká stolice. Resorpce vody, minerálů a vitamínů je podpořena pomalým posunem chymu, jehož pohyb je ulehčen hlenem vzniklým v tubulárních žlázách tračníku (Trojan et Schreiber, 2002). Motilitu tračníku podporují vzniklé plyny (Kittnar, 2011). Chymus je v tračníku mísen segmentačními pohyby svaloviny a posunován k rektu peristaltickými kontrakcemi a velkými posunovacími pohyby. Stolice je tvořena ze 75 % vodou, dále nestrávenými zbytky potravy, nestravitelnými látkami, anorganickými látkami, mrtvými bakteriemi, žlučí, hlenem a odloupaným epitelem (Trojan et Schreiber, 2002; Parker et Winston, 2007; Kittnar, 2011). Zápach stolice je dán složením potravy, mikrobiotou tlustého střeva a výskytem látek, jako jsou indol, skatol, sulfan a thioly (Kittnar, 2011). Má mírně kyselou reakci, která je dána obsahem organických kyselin vznikajících působením bakterií ze sacharidů (Ganong, 2005).

Tlusté střevo je hojně obýváno symbiotickými bakteriemi. Podle jejich působení je možné je dělit na kvasné a hnilobné bakterie. Kvasné bakterie rozkládají část nestravitelných složek potravy, jako celulózu a pektin, a sacharidy nevstřebané v tenkém střevě. Činností kvasných bakterií vznikají mléčná kyselina, alkohol, mastné kyseliny s krátkým řetězcem, oxid uhličitý a metan. Do této skupiny bakterií patří například *Escherichia coli* a *Enterobacter aerogenes*. Hnilobné bakterie, mezi které patří bakterie rodu *Proteus*, vytvářejí z aminokyselin indol, skatol, sulfan a thioly (Kittnar, 2011). Střevní bakterie tak svou činností snižují objem stolice. Zároveň svým metabolismem syntetizují vitamin K₂ (menachinon) a vitaminy skupiny B (Trojan et Schreiber, 2002).

Denně dochází v tlustém střevě k vytvoření přibližně 7-10 l střevních plynů, z nichž se majoritní množství opět absorbuje do krve. Část z těchto plynů vytváří výše zmíněné bakterie tlustého střeva, další se do střev dostávají prostupováním z krve (zejména vodík, metan, oxid uhličitý a částečně kyslík). Spolykaný vzduch se z většiny vstřebává už v tenkém střevě, ve střevě tlustém je proto jen minoritně (Kittnar, 2011). Nevstřebažené střevní plyny odcházejí většinou spolu se stolicí v objemu okolo 600 ml denně a způsobují její typický zápach (Trojan et Schreiber, 2002).

3.1.3 Přídavné orgány

Slinné žlázy

Sliny jsou tvořeny zejména třemi páry hlavních slinných žláz (příušními, podčelistními a podjazykovými), dále pak menšími slinnými žlázkami ve sliznici úst a jazyka. Význam slin spočívá zejména ve zvlhčení sliznice dutiny ústní, díky kterému se sousto snadněji vytváří a polyká. Sliny též napomáhají čistit ústní dutinu a částečně rozpouštějí molekuly potravy, které následně stimulují chuťové pohárky. Denně se vytvoří přibližně 1,5–2 litry slin, jejichž pH je zpravidla v rozmezí 7,0-8,0. Produkci slin stimulují vůně a chuť potravy, mechanické dráždění sliznice v ústech či podmíněné reflexy. Naproti tomu při dehydrataci, úzkosti, strachu, únavě či spánku sekrece slin klesá. (Ganong, 2005; Kittnar, 2011).

Sliny se skládají převážně z vody s obsahem iontů (HCO_3^- , I^- , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , fosfáty) a organických látek (mucin, lysozym, imunoglobulin A, laktoferrin) (Kittnar, 2011). Sliny obsahují také dva trávicí enzymy, a to slinnou α -amylázu a jazykovou lipázu. Enzym α -amyláza hydrolyzuje α -1,4-glykosidové vazby škrobu za vzniku maltózy, maltotriózy a α -dextrinu. Její působení je utlumeno v žaludku, kde je nízké pH. Naopak jazyková lipáza je nejvíce aktivní v acidním žaludečním prostředí (Ganong, 2005; Parker et Winston, 2007).

Játra

Játra jsou největší žlázou v těle a mají množství funkcí. Mezi hlavní funkce patří tvorba a vylučování žluči, metabolismus živin a vitaminů, eliminace toxických látek, syntéza proteinů plazmy, udržování glykemie, recyklace erytrocytů, podíl na imunitě organismu a termoregulaci. V játrech se také syntetizují koagulační faktory, plazmatické lipoproteiny a cholesterol; dochází zde rovněž k deaminaci aminokyselin (Ganong, 2005; Parker et Winston, 2007; Kittnar, 2011).

Skladovací funkce jater spočívá v uchování glukózy, vitaminů (především vitaminy A, D, B_{12} , E a K) a některých kovů (železa, mědi, kobaltu) (Parker et Winston, 2007;

Kittnar, 2011). V játrech může být rovněž zadržována krev, čímž se reguluje množství krve v krevním oběhu (Trojan et Schreiber, 2002).

Sekreční činností jater se tvoří žluč, která má značný význam při trávení lipidů v tenkém střevě a spolu s pankreatickou šťávou se podílí na stabilizaci pH v duodenu (Parker et Winston, 2007; Kittnar, 2011). Denně se jí v játrech vytvoří asi 0,7-1,2 litru. Skládá se zejména z vody, iontů a solí žlučových kyselin. Dále obsahuje cholesterol, fosfatidylcholin, žlučová barviva bilirubin a biliverdin, která vytvářejí její zlatožlutou barvu, steroidní hormony, vitamíny a další látky rozpuštěné v alkalickém roztoku (Ganong, 2005; Kittnar, 2011). Rozkladem cholesterolu v játrech účinkem enzymů 3 α -hydroxylázy, 7 α -hydroxylázy a 27 α -hydroxylázy se tvoří žlučové kyseliny, jež se uplatňují při emulgaci a vstřebávání lipidů. Hlavní žlučové kyseliny jsou cholová a chenodeoxycholová (Kittnar, 2011). Játra jsou také stěžejním místem pro degradaci hormonů (Parker et Winston, 2007).

Žlučník

Žluč vzniklá v játrech je odváděna do žlučníku, což je přídatný svalový orgán hruškovitého tvaru sloužící k jejímu skladování a zahušťování. Zahušťování napomáhá velká absorpční schopnost buněk epitelu žlučníku (Kittnar, 2011; Shier et al., 2015); žluč ve žlučníku je koncentrovanější než v játrech (Murray, 2002). Kromě zahuštění žluči, které je zajištěno resorpcí vody, se zde žluč také okyseluje. Sliznice žlučníku je zřasená, což zvětšuje jeho povrch (Ganong, 2005).

K uvolňování žluči do duodena dochází kontrakcí žlučníku, která je stimulována hormonem cholecystokininem. Cholecystokinin je vylučován střevní sliznicí jako reakce na obsah lipidů a proteinů v tenkém střevě (Shier et al., 2015).

Slinivka břišní

Slinivka břišní (pankreas) je žláza s exokrinní i endokrinní funkcí. Endokrinní funkce spočívá ve vylučování dvou hlavních hormonů, insulinu a glukagonu. Insulin snižuje hladinu glykémie, glukagon ji naopak zvyšuje. Exokrinní funkcí pankreatu je produkce pankreatické šťávy, která obsahuje enzymy důležité pro trávení proteinů, lipidů i sacharidů v tenkém střevě (Parker et Winston, 2007; Marieb et al., 2017). Šťáva má alkalický charakter a obsahuje velké množství hydrogenuhličitanových iontů, které neutralizují acidní chymus ze žaludku. Denně se jí vyloučí okolo 1500 ml (Ganong, 2005; Parker et Winston, 2007).

V pankreatické šťávě jsou obsaženy enzymy trypsin, chymotrypsin, elastáza, karboxypeptidáza A a karboxypeptidáza B, které všechny štěpí proteiny a polypeptidy. Trávení

lipidů se účastní pankreatické enzymy kolipáza, která pomáhá odhalit aktivní místo pankreatické lipázy, a samotná pankreatická lipáza štěpí triacylglyceroly na monoacylglyceroly a mastné kyseliny. Cholesterylesterhydroláza hydrolyzuje estery cholesterolu. Fosfolipáza pankreatické šťávy štěpí fosfolipidy. Působením ribonukleázy a deoxyribonukleázy se štěpí nukleové kyseliny DNA a RNA na jednotlivé nukleotidy. Pankreatická α -amyláza má jako substrát škrob, který štěpí na maltózu, maltotriózu a α -dextriny, stejně jako v případě slinné α -amylázy v ústech (Murray, 2002; Ganong, 2005).

3.1.4 Onemocnění trávicí soustavy

Vzhledem ke komplexnosti trávicí soustavy zde dochází k celé řadě onemocnění. Nejčastějšími onemocněními dutiny ústní jsou zubní kazy a gingivitida (zánět dásní), způsobené nedostatečnou orální hygienou. Ústní dutina může být také postižena karcinomem či rozštěpy rtů a patra (Jin et al., 2016). Jícen může být zasažen gastroezofageálním refluxem, při kterém se do jícnu dostává acidní obsah žaludku. Zjevným projevem refluxu bývá pálení žáhy. Namáhavé polykání, jež znesnadňuje průchod potravy jícnem do žaludku, je známkou svalového onemocnění jícnu. V neposlední řadě se v jícnu může vyskytnout zhoubný nádor, často jako důsledek kouření nebo přílišného příjmu alkoholu (Parker et Winston, 2007).

Žaludečních potíží je velké množství. Nejrozšířenější jsou gastritida (zánět sliznice žaludku), žaludeční vředy a rakovina žaludku. Chronická gastritida a žaludeční vředy bývají způsobeny hlavně velkým příjmem alkoholu, užíváním některých léků dráždicích žaludeční sliznici (např. aspirinu) nebo bakterií *Helicobacter pylori*, která poškozují přirozenou hlenovou vrstvu, jež chrání sliznici před acidními gastrickými šťávami. *Helicobacter pylori* může rovněž vyvolávat adenokarcinom žaludku nebo nádory žaludeční mízní tkáně. Vznik žaludečních vředů mohou též zapříčinit genetické predispozice a strava (Parker et Winston, 2007; Sugano et al., 2015).

Onemocněními střev jsou například ulcerózní kolitida, Crohnova choroba, celiakie, apendicitida, střevní polypy, kolorektální karcinom a hemoroidy. Ulcerózní kolitida a Crohnova choroba jsou zánětlivá autoimunitní onemocnění střev, která se projevují průjmem, bolestmi břicha, nechutenstvím a následným úbytkem na váze a horečkami. Apendicitida, zánět appendixu neboli červovitého přívěsku slepého střeva, způsobuje ostrou bolest a zpravidla je nutné jeho okamžité odstranění. Střevní polypy jsou atypické útvary sliznice tlustého střeva. Vyskytují se u starších pacientů a zpravidla jsou benigní, mohou však dát základ zhoubnému

kolorektálnímu nádoru. Kolorektální karcinom (rakovina tlustého střeva) je častý ve vyspělých zemích, kde bývá problémem nízký obsah vlákniny ve stravě. Jeho incidenci rovněž zvyšuje příjem velkého množství tuků, alkoholu a obezita. Hemoroidy jsou zvětšené žíly v rektu způsobené nuceným tlačáním stolice při zácpě, projevují se výtokem krve a hlenu z rekta (Parker et Winston, 2007; Peery et al., 2015).

Rovněž přídatné orgány trávicí soustavy mohou být postiženy různými onemocněními. Častou příčinou jaterních onemocnění bývá alkohol, při jehož štěpení vzniká tuk. Při velkém příjmu alkoholu tak může docházet ke steatóze (ztučnění) jater, která je při omezení alkoholu vratná. Při přetrvávající vysoké konzumaci alkoholu může játra postihnout alkoholická hepatitida nebo cirhóza, což je trvalá změna, při které dojde k nahrazení hepatocytů vazivovou tkání (Parker et Winston, 2007). Alkoholická hepatitida je však podle Shiera et al. (2015) spíše vzácná. Hepatitida je zánět jater, který je ve většině případů vyvoláný virem. Může být akutní či chronická. Nejběžnějšími typy jsou hepatitida A, B a C. Hepatitida A je nejčastější, její příčinou je požití jídla nebo vody kontaminovaných výkaly. Játra neodbourávají žlučové barvivo bilirubin, které se kumuluje v organismu a následně se projevuje jako žloutenka. Hepatitida B je, na rozdíl od ostatních typů, způsobena DNA virem. Přenáší se tělními tekutinami obsahujícími virus (krví, slinami, spermatem), nejčastěji tedy dochází k nákaze pohlavním stykem či krevní transfúzí. K přenosu hepatitidy C dochází rovněž krevními transfúzemi či z matky na plod (Shier et al., 2015).

Ve žlučníku může dojít k vytvoření žlučových kamenů, tvořených zejména cholesterolem. Žlučový kámen umístěný ve vývodu ze žlučníku omezuje jeho vyprázdnění, čímž může dojít ke vzniku cholecystitidy (zánětu žlučníku). Žlučové kameny nebo alkohol mohou být také příčinou pankreatitidy (zánětu slinivky břišní). Jedná se o autodigestivní poruchu, neboť enzymy produkované pankreatem tráví vlastní tkáň. Velmi závažným onemocněním s nepříznivou prognózou je karcinom pankreatu (Parker et Winston, 2007).

3.2 Mikrobiom trávicí soustavy

Uvnitř lidského těla a na jeho povrchu je značné množství prokaryotických organismů. Sender et al. (2016) odhaduje, že celkový počet bakterií je u 70 kg jedince asi $3,8 \times 10^{13}$ a jejich hmotnost v těle činí přibližně 0,2 kg. Tyto prokaryotické organismy zprostředkovávají mnoho biologických funkcí, které zahrnují roli v metabolismu a imunitě (Sonnenburg et al., 2016; Sordillo et al., 2017). Mikrobiom se v těle přizpůsobuje změnám podmínek v prostředí úpravou druhového složení nebo velikosti jednotlivých populací (Avila et al., 2009; Walsh et al., 2014).

Avila et al. (2009) uvádí, že ačkoli je většina mikroorganismů kolonizujících lidské tělo prospěšná, některé z nich mohou přejít do stavu patogenity. Podle jednoho vysvětlení jsou bakterie způsobující onemocnění ve stavu patogenity neustále, ale hojněji zastoupené komenzální bakterie jim zabraňují vytvořit si zázemí pro další rozvoj. Dalším vysvětlením je stimulace bakteriální aktivity spouštěčem z prostředí, jež má za následek infekci či onemocnění.

Počet a konkrétní zastoupení mikroorganismů se v jednotlivých oddílech trávicího traktu značně liší. Sliny obsahují velké množství bakterií, ale počet buněk, které ve slinách tvoří původní mikrobiotu, je obtížné určit. Tato skutečnost je dána především silným průtokem slin, který znesnadňuje proliferaci bakterií. Do značné míry jsou proto organismy nacházející se ve slinách ty, které byly uvolněny z povrchu ústní dutiny, například z jazyka (Kort et al., 2014). V žaludku dojde k usmrcení velkého množství bakterií a nachází se zde maximálně 10^4 KTJ/ml. V tenkém střevu počet bakterií postupně roste z asi 10^3 – 10^5 KTJ/ml v duodenu a jejunu na 10^7 – 10^8 KTJ/ml v ileu. Místem s velkým osídlením bakteriemi je tlusté střevo. Odhaduje se, že obsahuje 1,5 kilogramu mikroorganismů (10^{14} KTJ/ml), přičemž počet bakterií je zhruba 10^{10} – 10^{11} KTJ/ml (Ohara-Nemoto et al., 2008; Merchant et al., 2016).

3.2.1 Mikrobiom dutiny ústní

Mikroorganismy s největším zastoupením v ústní dutině představují *Streptococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Veillonella* spp., *Fusobacterium* spp., *Porphyromonas* spp., *Prevotella* spp., *Treponema* spp., *Neisseria* spp., *Haemophilus* spp., *Eubacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Capnocytophaga* spp., *Eikenella* spp., *Leptotrichia* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Staphylococcus* spp. a *Propionibacterium* (Aas et al., 2005; Avila et al., 2009).

Většina mikroorganismů ve zdravé dutině ústní je symbiotických. Tyto mikroorganismy se vyznačují tím, že mají se svým hostitelem vzájemně prospěšný vztah. Některé komenzální

mikroorganismy mohou dokonce zabraňovat patogenním druhům adherovat na povrch sliznice. (Avila et al., 2009).

Povrch dutiny ústní je pokryt značným množstvím shluků bakterií různých druhů, označovaných jako bakteriální biofilmy. Vhodné podmínky pro jejich tvorbu vytváří buňky epitelu, zubní sklovina pokrytá slinami, případně rovnátka a jiné faktory (Aas et al., 2005; Avila et al., 2009). V různých částech ústní dutiny se složení mikrobioty liší (Arweiler et al., 2004). Druhové složení biofilmů v ústní dutině ovlivňuje prostředí, zahrnující pH, teplotu, redoxní potenciál, slanost a aktivitu vody ve slinách. Sliny mají pro biofilmy dutiny ústní zásadní význam, neboť jim přinášejí živiny. Neopomenutelný vliv na mikrobiální biofilmy v ústech má také zubní hygiena (Avila et al., 2009).

Větší množství a složitější skladba biofilmů může způsobovat parodontální onemocnění, například chronický zánět dásní a parodontitidu. Tyto biofilmy jsou obvykle tvořeny zejména grampozitivními fakultativními anaeroby (např. *Streptococcus anginosus*), ale při nedostatečné ústní hygieně narůstá rovněž počet gramnegativních bakterií (např. *Porphyromonas* spp., *Campylobacter* spp., *Treponema denticola*), které přispívají k parodontálním zánětům (Avila et al., 2009). Kromě bakterií jsou s parodontitidou spojovány rovněž kvasinky, např. *Candida albicans* (Williams et al., 2011), nebo viry, např. herpesviry (Avila et al., 2009).

3.2.2 Mikrobiom žaludku

V mikrobiomu žaludku má výsadní postavení rod *Helicobacter*, který ovlivňuje ostatní žaludeční mikrobiotu. Pokud je *H. pylori* přítomná jako komenzální organismus, v mikrobiotě žaludku jsou hojně zastoupeny *Streptococcus* spp., *Prevotella* spp., *Veillonella* spp. a *Rothia* spp. V případě patogenního fenotypu *H. pylori* je diverzita mikrobioty značně nižší (Jandhyala et al., 2015).

H. pylori má dobře vyvinuté mechanismy, díky kterým dokáže přežít v kyselém žaludečním prostředí. Mezi ně patří například přítomnost ureázy, která rozkladem močoviny produkuje amoniak, jenž neutralizuje kyselost, nebo její šroubovicový tvar, který jí usnadňuje pronikání do vrstvy žaludeční sliznice (Ansari et Yamaoka, 2017).

3.2.3 Střevní mikrobiom

Střevní mikrobiom člověka je komplexním ekosystémem, skládajícím se z několika stovek různých bakteriálních druhů. Má významnou roli pro zdraví a výživu, neboť zabraňuje kolonizaci střev potenciálně patogenními mikroorganismy, produkuje i zpracovává živiny a interaguje s vyvíjejícím se imunitním systémem (Fallani et al., 2010). Avila et al. (2009) navíc

zmiňuje vysokou hustotou buněk ve střevním mikrobiomu a jejich koevoluci s množstvím druhů, které zahrnují například i původce vředů *H. pylori*.

3.2.3.1 Střevní mikrobiom novorozenců a kojenců

Kolonizace střevními bakteriemi začíná již během několika hodin po porodu a v prvních dnech novorozence dochází k rychlému nárůstu jejich počtu. Střevní mikrobiom kojence je však velmi odlišný od mikrobiomu dospělých, neboť se vyznačuje nízkou rozmanitostí a značnou jednoduchostí. Ve střevech novorozence je vysoký obsah kyslíku, který zabraňuje růstu anaerobních bakterií. V prvním týdnu života proto ve střevech dochází k rozšiřování aerobních bakterií, které spotřebovávají kyslík a vytvářejí tím prostředí, jež dále podporuje růst anaerobních bifidobakterií. Složení mikrobiomu střev je v dětství ovlivněno mnoha faktory, mezi něž patří způsob porodu, druh kojenecké výživy a použití antibiotik (Merchant et al., 2016).

Při porodu je novorozenec vystaven celé řadě mikrobů, z nichž mnoho pochází z porodních cest nebo kůže matky. Při vaginálním porodu získá novorozenec mikrobiom podobný matčině vaginálnímu mikrobiomu, ve kterém dominují *Lactobacillus* spp., *Prevotella* spp. a *Sneathia* spp. U novorozenců rozených císařským řezem převládají bakterie nacházející se na kůži, tedy zejména rody *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp. a *Propionibacterium* spp. Způsob porodu tedy může vést k rozdílům ve vývoji mikrobiomu, které mohou následně přispět k predispozicím pro různá onemocnění (Dominguez-Bello et al., 2010).

Dalším faktorem ovlivňujícím změny ve střevním mikrobiomu je druh kojenecké výživy. Kojení mateřským mlékem, zejména v prvních týdnech po narození, stimuluje díky vysokému obsahu oligosacharidů proliferaci bifidobakterií, neboť oligosacharidy mateřského mléka působí na střevní bakterie prebioticky. Při kojení mateřským mlékem převládají v mikrobiomu bifidobakterie a laktobacily, naproti tomu mikrobiom nekojených novorozenců zahrnuje vyšší počty enterobakterií a enterokoků (Walker et Shuba Iyengar, 2015). U kojenců krmených mateřským mlékem se vyskytuje ve střevě méně klostridií. Kojenci krmení umělou kojeneckou výživou mají naopak klostridií ve střevech vyšší obsah, což může být spojeno se zvýšeným rizikem alergických onemocnění (Sordillo et al., 2017).

Vliv na nastolení střevního mikrobiomu a jeho diverzitu má rovněž podávání antibiotik. Jejich užívání v perinatálním období, zejména u předčasně narozených dětí, negativně působí na rovnováhu mikrobiomu. Kvůli narušení zastoupení jednotlivých druhů bakterií

se novorozenec stává náchylnějším k infekčním onemocněním. Kromě zvýšeného výskytu zánětlivého onemocnění střev může vést dlouhodobé užívání antibiotik během 1. roku života k rozvoji astmatu (Walker et Shuba Iyengar, 2015). Vystavení antibiotikům v nízkém věku může rovněž ovlivňovat riziko nadváhy až obezity v dospělosti (Ajslev et al., 2011; Walker et Shuba Iyengar, 2015).

3.2.3.2 Střevní mikrobiom dospělých

Střevní mikrobiom má klíčovou roli ve vývoji imunitního systému, a to v případě vrozené i získané imunity (Thum et al., 2012; Sordillo et al., 2017). Střevní dysbióza je významným faktorem ovlivňujícím metabolická onemocnění, který může působit například na motilitu střev, trávení polysacharidů, ukládání triglyceridů v adipocytech a citlivost na insulin. Vznik dysbiózy může být zapříčiněn více vlivy, jako jsou strava, věk, prostředí, stres, genetické predispozice či užívání antibiotik (Boulangé et al., 2016). Například jedna z nejpatrnějších změn ve stáří je snížení počtu a diverzity bifidobakterií. Celkové počty anaerobních bakterií nicméně zůstávají podobné jako u mikrobiomu dospělých (Merchant et al., 2016).

Mikrobiom může na zdraví působit také nepřímo. Cueva et al. (2017) například naznačují, že k příznivým účinkům rostlinných fenolových sloučenin dochází právě díky jejich interakci se střevním mikrobiomem. Ten je totiž přeměňuje na biologicky dostupné metabolity, které se vstřebávají lépe než jejich prekursorů a mohou pozitivně ovlivňovat zdraví GIT. Nicméně rozdíly ve složení a funkčnosti střevní mikrobioty v populaci mají vliv na činnost fenolových sloučenin, a tím i na jejich odlišné účinky na zdraví (Espín et al., 2017; Tomás-Barberán et al., 2016).

Walsh et al. (2014) a Jandhyala et al. (2015) uvádějí, že jsou ve střevním mikrobiomu nejhojnější zástupci kmenů *Firmicutes* a *Bacteroidetes*, menší zastoupení pak mají mimo jiné kmeny *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* a *Cyanobacteria*. Mikrobiom střev tvoří převážně anaerobi, kteří řádově dvakrát až třikrát převažují nad fakultativními anaeroby a aerobními bakteriemi (Walsh et al., 2014).

Okolo tří let věku se začíná dětský mikrobiom podobat dospělému (Jandhyala et al., 2015), který se vyznačuje relativní vyrovnaností (Walsh et al., 2014). V duodenu a jejunu je dominantní *Streptococcus* spp. V tlustém střevě převládají kmeny *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Kromě rodů z těchto dvou kmenů obývají tlusté střevo v malém množství

rovněž primární patogeny. Mezi ně lze řadit například druhy *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritica*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* a *Bacteroides fragilis* (Jandhyala et al., 2015).

Zastoupení mikroorganismů se liší v rámci jednotlivých vrstev střeva. Dominantními v lumen střeva jsou *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp. a *Ruminococcus* spp. Ve střevní mukóze se vyskytují *Clostridium* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp. a *Akkermansia* spp. (Jandhyala et al., 2015).

3.2.4 Vliv stravy na mikrobiom

Stravovací návyky jsou jedním z klíčových faktorů podílejících se na diverzitě mikrobiomu (He et al., 2013). Walker et Shuba Iyengar (2015) uvádějí, že výživa člověka významně ovlivňuje skladbu bakterií kolonizujících střevo, neboť jim poskytuje energii k proliferaci.

Některé složky potravy, tzv. prebiotika, podporují růst prospěšných bakterií (např. bifidobakterií a laktobacilů) na úkor patogenních (např. *Salmonella* spp., *H. pylori*, *Clostridium perfringens*) (Manigandan et al., 2012). Mikrobiom kojenců je výrazně ovlivněn tím, zda jsou krmeni mateřským mlékem či umělou výživou, přičemž na složení mateřského mléka má vliv mimo jiné i strava matky. Pokud je strava matky doplněna o probiotika a prebiotika, která zlepšují skladbu jejího mikrobiomu v GIT, pozitivně to ovlivní také vývoj mikrobiomu GIT novorozence (Thum et al., 2012).

David et al. (2013) uvádí, že střevní mikrobiom dokáže rychle reagovat na změny složení stravy. Strava založená na živočišných produktech zvyšuje výskyt mikroorganismů snášejících žluč (*Alistipes* spp., *Bilophila* spp. a *Bacteroides* spp.) a zároveň snižuje výskyt zástupců kmene *Firmicutes* (například *Roseburia* spp. a *Eubacterium rectale* a *Ruminococcus bromii*), kteří metabolizují rostlinné polysacharidy ve stravě.

Problémem ve vyspělých zemích je strava s vysokým zastoupením tuku a jednoduchých sacharidů a zároveň s nízkým obsahem sacharidů, jež jsou metabolicky dostupné střevním mikrobům a slouží pro ně jako prebiotikum (Mizock, 2015). Tato nevyváženost stravy vede ke snížené rozmanitosti střevního mikrobiomu. K jeho obnovení je třeba příjem chybějících taxonů mikroorganismů spolu s prebiotiky, která jsou substrátem pro jejich výživu (Sonnenburg et al., 2016).

Strava chudá na prebiotika má za následek nízkou produkci mastných kyselin s krátkým řetězcem produkovaných střevním mikrobiomem. Tyto mastné kyseliny zmírňují zánět, proto střevní dysbióza často zapříčiňuje zánětlivá onemocnění (Sonnenburg et Sonnenburg, 2014).

3.3 Patogeny v trávicím traktu člověka

Patogeny se v trávicím traktu člověka vyskytují buď přirozeně, nebo pocházejí z vnějšího prostředí. Patogenní organismy lze rozdělit na primární, které vyvolají onemocnění u zdravého jedince, a oportunní (podmíněné), které se projevují jen za určitých podmínek – například při poklesu imunity. Oportunní infekce GIT mohou vznikat přemnožením mikroorganismů, které jsou přirozeně zastoupeny v minoritním množství. Druhou možností vzniku oportunních infekcí GIT je invaze patogenů z vnějšího prostředí, která bývá spojená s produkcí toxinů (Zbořil et al., 2005).

Escherichia coli

E. coli (Obr. 4) je gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinkovitá nesporulující bakterie z čeledi Enterobacteriaceae. Jejím přirozeným prostředím jsou střeva teplokrevných živočichů. Slouží jako indikátor fekálního znečištění vody a potravin a jako modelový organismus pro biochemický, genetický i fyziologický výzkum. *E. coli* fermentuje cukry za vzniku kyselin (zejména mléčné, pyrohroznové, octové a mravenčí) a plynu. Některé kmeny jsou podmíněně patogenní, což znamená, že jsou přirozenou součástí mikrobiomu a jejich patogenita se projeví jen za určitých okolností (Šilhánková, 2002; Zbořil et al., 2005; Forsythe, 2010).

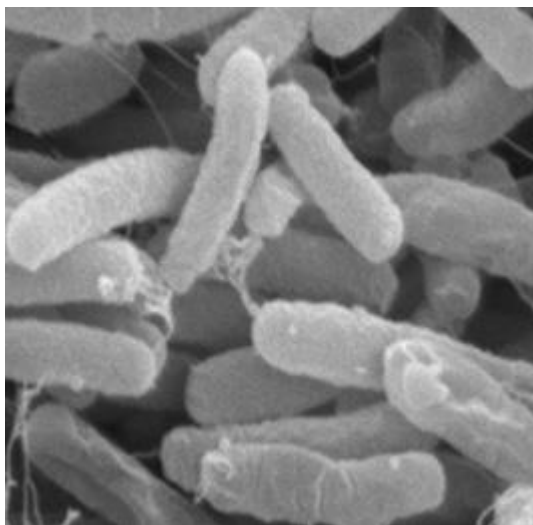
Na základě přítomnosti somatických, flagelárních a kapsulárních antigenů se rozlišuje přes 700 sérotypů *E. coli*. Patogenní kmeny způsobují střevní onemocnění (gastroenteritidy), infekce močových cest a meningitidu u novorozenců. Kmeny vyvolávající průjemová onemocnění jsou v současnosti rozlišovány podle faktorů virulence, které jsou pro každý kmen jedinečné. Mezi determinanty virulence se řadí adheziny, invaziny, toxiny a schopnost odolat obranným mechanismům hostitele. *E. coli* je přizpůsobivá bakterie, která se dobře adaptuje na prostředí, ve kterém žije (Todar, 2012d).

V rámci patogenních kmenů *E. coli* způsobujících průjemová onemocnění Forsythe (2010) uvádí následující skupiny:

- ETEC (enterotoxigenní *E. coli*)
- EIEC (enteroinvazivní *E. coli*)

- EHEC (enterohemoragické *E. coli*)
- EPEC (enteropatogenní *E. coli*).

Todar (2012d) navíc uvádí skupinu EAEC (enteroagregační *E. coli*).



Obrázek 4: *E. coli*.

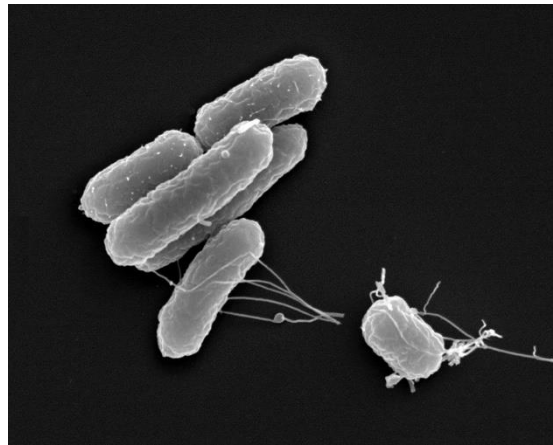
(zdroj: <http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html>)

Ačkoli mnozí zástupci rodu *Escherichia* patří mezi významné patogeny, je známý i probiotický kmen *E. coli* Nissle 1917. *E. coli* Nissle 1917 má význam při léčbě zácpy a zánětlivých onemocnění střev, může rovněž zmírnit ulcerózní kolitidu, Crohnovou chorobu a kolorektální karcinom (Gronbach et al., 2010; Fijan, 2014). Je aktivní složkou léku Mutaflor[®] (Ardeypharm GmbH, Herdecke, Německo a EcN, Cadigroup, Itálie), který je užíván při mnoha gastrointestinálních potížích (Scaldaferri et al., 2016).

Salmonella spp.

Salmonella spp. (Obr. 5) patří do čeledi Enterobacteriaceae. Zástupci tohoto rodu jsou gramnegativní, fakultativně anaerobní, nesporeující krátké tyčinky. Většina druhů je nepohyblivá (Forsythe, 2010). Salmonely žijí ve střevech lidí a živočichů. Některé druhy jsou všudypřítomné, zatímco jiné jsou přizpůsobeny konkrétnímu hostiteli. U lidí salmonely způsobují salmonelózy, které se dělí na akutní gastroenteritidy, jež jsou důsledkem požití kontaminovaných potravin, a enterické horečky (břišní tyfus nebo paratyfus), při kterých dochází k invazi bakterií do krevního oběhu. Akutní gastroenteritidy jsou zpravidla způsobeny *S. enteritidis* a *S. typhimurium*. Projevují se silnými průjmy, zvracením, horečkou a zimnicí. *S. typhi* způsobuje břišní tyfus, *S. paratyphi* paratyfus. Tyfus se přenáší vodou a potravinami, které jsou kontaminované fekáliemi, nebo kontaktem s nemocným. Výskyt tyfu je ve vyspělých

zemích nízký, což je dáno existencí kanalizačních systémů, pasterizací mléka a mléčných výrobků a celkově vyšší úrovni hygieny. Na infekce způsobené salmonelami jsou náchylnější děti a jedinci se sníženou imunitou nebo onemocněním krve. Salmonely se dělí podle antigenů na sérovary, které se z důvodu zjednodušení většinou v názvu uvádějí jako druhy, tedy například *S. enteritidis*, jež je nejčetnějším sérovarem. Sérovarů salmonel je okolo 2200 (Todar, 2012e).



Obrázek 5: *Salmonella*

(zdroj: <https://www.pasteur.fr/en/research-journal/reports/salmonella-outbreak-institut-pasteur-raises-alarm>)

Shigella spp.

Shigella spp. patří do čeledi Enterobacteriaceae a zahrnuje gramnegativní, nepohyblivé, nesporulující tyčinky. Shigelly způsobují bacilární dysenterii (shigelózu), akutní infekční onemocnění projevující se silnými průjmy s krví a hlenem, bolestmi břicha, zvracením a horečkou. Onemocnění je obvykle přenášeno fekálně-orální cestou. Bakterie po požití přežívají v agresivním prostředí žaludku a pronikají do slizničních buněk tlustého střeva, kde se množí a dále rozšiřují, což vede k destrukci tkání a vzniku vředů. Po infekci *S. dysenteriae* typu 1 může nastat tzv. hemolytický uremický syndrom, který je způsoben produkcí Shiga toxinu (také nazývaného verotoxin). Shiga toxiny produkují také enterohemoragické kmeny *E. coli* (Todar, 2012f).

Helicobacter pylori

H. pylori je spirální, mikroaerofilní, gramnegativní bakterie kolonizující žaludeční sliznici přibližně 50 % světové populace. Její výskyt zvyšuje riziko některých žaludečních onemocnění (Seifert et Charvátová, 2001; Llorca et al., 2017). Tím, že poškozují sliznici, způsobuje chronickou gastritidu. Dále ovlivňuje vznik vředů v duodenu, žaludečních vředů, adenokarcinomu žaludku nebo nádorů žaludeční mízní tkáně (Sugano et al., 2015). S největší

pravděpodobností se přenáší oro-orální nebo fekálně-orální cestou (Seifert et Charvátová, 2001).

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes je grampozitivní, fakultativně anaerobní, nesporulující tyčinka. Tato patogenní bakterie způsobuje listeriózu, což je závažná infekce vznikající konzumací potravin kontaminovaných bakteriemi. Listeriíza postihuje především těhotné ženy, novorozence a jedince s oslabeným imunitním systémem (Todar, 2012a).

3.4 Probiotika, prebiotika, synbiotika

3.4.1 Probiotika

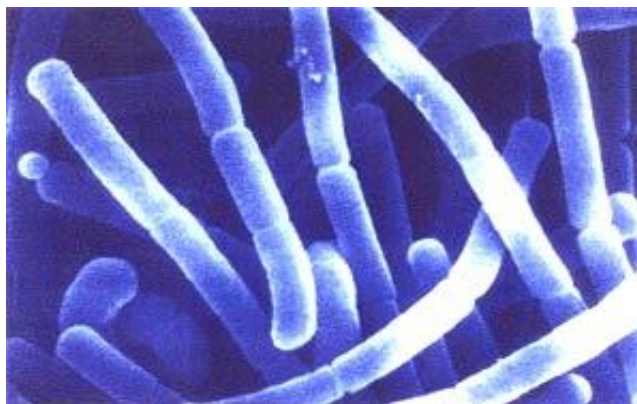
Světová zdravotnická organizace (WHO, 2006) definuje probiotika jako živé mikroorganismy, které při podávání v přiměřeném množství příznivě ovlivňují zdraví svého hostitele. Probiotické organismy proto nesporně představují významný profylaktický i terapeutický prostředek. Probiotika se používají zejména při léčbě mnoha onemocnění GIT (Vieira et al., 2013).

Mezi nejpoužívanější probiotika patří *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp. a *Enterococcus* spp. Dalšími bakteriemi užívanými jako probiotika jsou někteří zástupci *Bacillus* spp. (například *Bacillus coagulans*), *Bifidobacterium* spp. a *Propionibacterium* spp. a *Clostridium butyricum*. Mezi probiotika patří také některé kvasinky (například *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces boulardii*) a plísně (například *Aspergillus oryzae*) (Rada, 2010; Pandey et al., 2015).

Laktobacily

Lactobacillus spp. zahrnuje grampozitivní fakultativně anaerobní nebo mikroaerofilní tyčinkovité bakterie. Jedná se o značně nestejnorodý rod, zahrnující druhy s velkou rozmanitostí fenotypových, biochemických i fyziologických vlastností. Laktobacily patří mezi bakterie mléčného kvašení, mají tedy schopnost přeměňovat hexózy obsažené v mléce na kyselinu mléčnou, čímž vzniká kyselé prostředí omezující růst některých druhů nežádoucích bakterií. Díky schopnosti kvašení jsou některé laktobacily využívány při výrobě fermentovaných potravin. Například *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* se používá při výrobě jogurtů a *L. acidophilus* (Obr. 6) při výrobě acidofilního mléka (Todar, 2012b; Fijan, 2014).

Laktobacily jsou přirozenou součástí mikrobiomu dutiny ústní, GIT a pochvy. Spolu s bifidobakteriemi patří mezi bakterie, které jako první kolonizují střeva novorozence (Fijan, 2014).



Obrázek 6: *Lactobacillus acidophilus*

(zdroj: <http://textbookofbacteriology.net/lactics.html>)

Běžně používanými probiotiky jsou *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. brevis*, *L. johnsonii*, *L. plantarum* a *L. fermentum* (Fijan, 2014). Todar (2012c) výčet doplňuje o *L. gasseri*, *L. helveticus*, *L. reuteri*, *L. jensenii*, *L. crispatus* a *L. salivarius*.

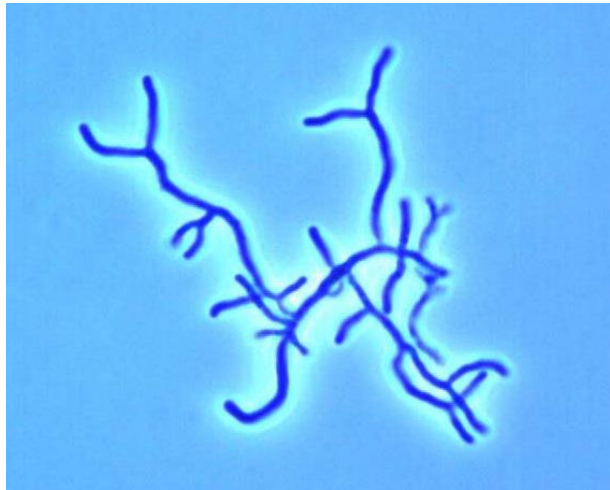
Laktobacily mají celou řadu pozitivních účinků. Některé kmeny působí preventivně na vznik průjmů spojených s užíváním antibiotik (Hempel et al., 2012). *L. acidophilus* a *L. rhamnosus* jsou používány proti patogenům způsobujícím tzv. „cestovatelské průjmy“ (Fijan, 2014). Kmen *L. rhamnosus* GG lze podle Pace et al. (2015) považovat za prototyp probiotického kmene, neboť je velmi dobře klinicky prozkoumán a vykazuje typické probiotické účinky. Podílí se na prevenci a zmírnění průjmů různého původu a má význam při léčbě relapsující kolitidy způsobené *Clostridium difficile*. Isolauri et al. (2012) uvádí, že při obohacení kojenecké mléčné výživy o *L. rhamnosus* GG se zmírnily projevy atopického ekzému a zároveň došlo ke snížení výskytu alergických zánětů. Podle Mekkes et al. (2014) vedlo podání *L. gasseri* SBT2055 u zdravých pacientů s nadváhou ke snížení abdominálního viscerálního a podkožního tuku. Laktobacily mají také slibné uplatnění při léčbě bakteriálních vaginóz (Tachedjian et al., 2017).

Bifidobakterie

Bifidobacterium spp. zahrnuje grampozitivní nepohyblivé anaerobní bakterie přirozeně se vyskytující v GIT a pochvě. Díky rozmanitým mechanismům rezistence vůči žlučovým solím je řada bifidobakterií používána jako probiotika, významné jsou zejména *B. infantis*,

B. adolescentis, *B. animalis* subsp. *animalis*, *B. animalis* subsp. *lactis*, *B. bifidum*, *B. longum* (Obr. 7) a *B. breve* (Fijan, 2014).

Bifidobakterie, stejně jako jiná probiotika, působí příznivě při zácpě, průjmech a zánětlivých onemocněních střev, zmírňují ulcerózní kolitidu a snižují riziko vzniku ekzémů (Fijan, 2014). Isolauri et al. (2012) také zmiňuje jejich pozitivní vliv na alergie.



Obrázek 7: *Bifidobacterium longum*

(zdroj: http://textbookofbacteriology.net/lactics_4.html)

Laktokoky

Lactococcus spp. zahrnuje grampozitivní bakterie mléčného kvašení, jež jsou běžně používány v mlékárenství pro výrobu fermentovaných mléčných výrobků. Probiotické vlastnosti má *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CV56, který dokáže adherovat na epiteliální buňky pochvy. Ve spojení s dalšími probiotiky se používá při průjmech vyvolaných užíváním antibiotik (Fijan, 2014).

Streptokoky a enterokoky

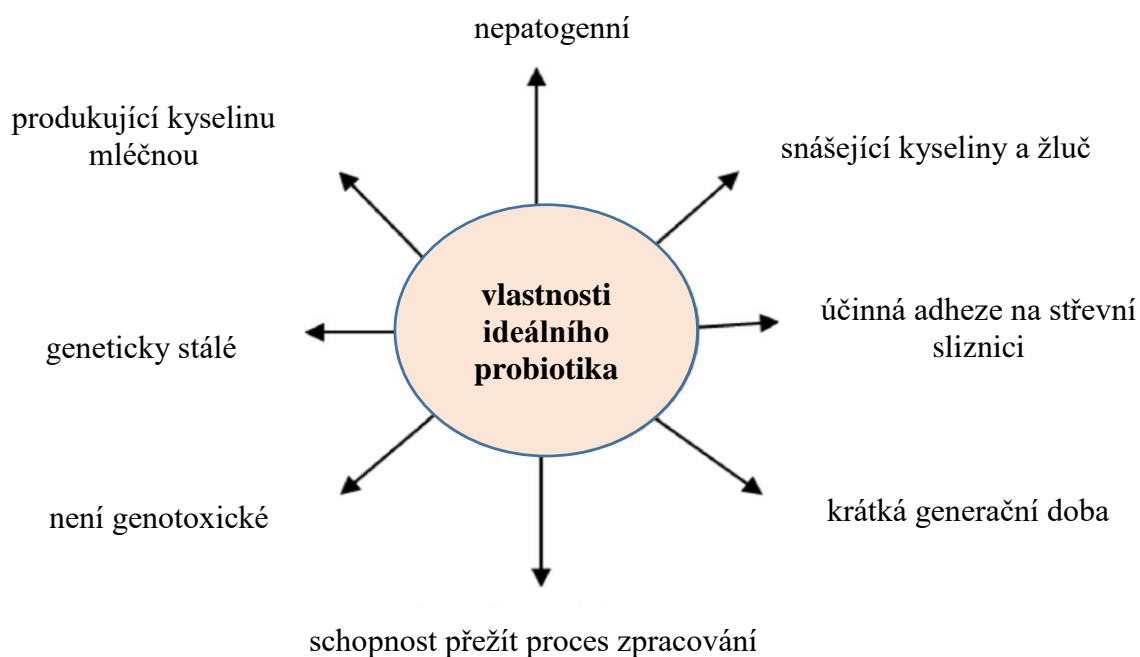
Ačkoli *Streptococcus* spp. a *Enterococcus* spp. zahrnují bakterie způsobující závažné infekce (například *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* a na antibiotikum vankomycin rezistentní *E. faecium*), patří do těchto rodů také nepatogenní zástupci. Některé kmeny, jako třeba *E. faecium* PC4.1, jsou součástí přirozeného mikrobiomu lidského těla. Určité streptokoky a enterokoky (například *S. thermophilus* a *E. durans*) vykazují probiotické vlastnosti. *S. thermophilus* je také spolu s *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* užíván při výrobě jogurtů. Z důvodu oportunní patogenity některých kmenů *E. faecium* však může být užití v humánní medicíně sporné. Nicméně se jedná o významná veterinární probiotika (Fijan, 2014).

Bacily

Bacillus spp. zahrnuje grampozitivní sporulující aerobní nebo fakultativně aerobní bakterie. Probiotické účinky vykazují *B. coagulans* a *B. cereus* NVH 75/95. *B. coagulans* se úspěšně používá při průjmech souvisejících s užíváním antibiotik. *B. cereus* NVH 75/95 je účinným veterinárním probiotikem. Některé kmeny *B. cereus* jsou vysoce toxické a pro lidi smrtelné, zatímco jiné kmeny mají probiotické vlastnosti (Fijan, 2014). Zhu et al. (2016) však upozorňují na problematiku bezpečnosti těchto probiotik.

3.4.2 Vlastnosti probiotik

Probiotické mikroorganismy by měly vykazovat některé důležité vlastnosti, mezi které patří odolnost vůči kyselému prostředí v žaludku a odolnost vůči žlučovým kyselinám, schopnost adheze na epitelální buňky, antimikrobiální aktivita proti potenciálním patogenům a schopnost omezovat adhezi patogenů. Probiotika by také měla mít schopnost hydrolyzovat žlučové soli, čímž se zvyšuje jejich životaschopnost. U probiotik pro vaginální použití je důležitá jejich odolnost vůči působení spermicidů (Fijan, 2014; Pace et al., 2015). Pandey et al. (2015) dále zdůrazňuje, že by se mělo jednat o nepatogenní, geneticky stálé organismy. Podle Isolauri et al. (2012) jsou vlastnosti probiotik ovlivněny výrobním procesem a potravinovou maticí.



Obrázek 8: Charakteristika ideálního probiotického kmene (upraveno podle Pandey et al., 2015)

Probiotika jsou do potravin (zejména fermentovaných mléčných výrobků) přidávána buď jednotlivě, nebo jako kombinace různých probiotických organismů. Výsledný produkt tak obsahuje jediný kmen nebo směs dvou i více kmenů, přičemž probiotické účinky jsou pro každý kmen specifické a nelze je zobecňovat. Zároveň může daný kmen vykazovat různé účinky při užití jednotlivě nebo v kombinaci více probiotik (Fijan, 2014; Pandey et al., 2015).

3.4.3 Význam probiotik

Probiotika mají pozitivní vliv na mnoho onemocnění. Jejich příznivé účinky zahrnují stimulaci imunitního systému, prevenci průjmu a zácpy, změny v konjugaci žlučových solí či protizánětlivé účinky (Rada, 2010). Kromě toho přispívají k syntéze živin a zlepšují jejich biologickou dostupnost. Probiotika také zmírňují v některých případech příznaky atopického ekzému a alergií, AIDS a infekcí dýchacích a močových cest. Prospěšně působí při zánětlivých střevních onemocněních, jako prevence kolorektálního karcinomu a při rotavirových infekcích kojenců (Pandey et al., 2015). Význam mají rovněž při léčbě bakteriálních vaginóz. V důsledku vaginálního podávání probiotik se udržuje nízké pH a produkují se antimikrobiální látky, jako jsou kyseliny a peroxid vodíku. Recidiva bakteriálních vaginóz je proto u pacientek užívajících probiotické laktobacily méně častá (Lee, 2014).

Konzumace probiotik pozitivně působí na průjmy vzniklé z různých příčin. Při akutních průjmech u dětí, způsobených rotaviry, plní probiotika pomocnou funkci k potřebné rehydrataci (Pandey et al., 2015). U průjmů způsobených narušením přirozeného mikrobiomu v důsledku užívání antibiotik působí probiotika preventivně, jako účinné se zdají být například *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii* a *L. fermentum* (McFarland, 2006; Lee, 2014). Vieira et al. (2013) uvádí v souvislosti se zlepšením průjmových stavů spojených s užíváním antibiotik u kojenců jako účinné *Bifidobacterium lactis* a *Streptococcus thermophilus*. Použití probiotik při průjmech vzniklých v důsledku užívání antibiotik shledávají jako účinné také Hempel et al. (2012). Profylaktické užívání laktobacilů, bifidobakterií, enterokoků a streptokoků má význam při tzv. „cestovatelských průjmech“. Ty postihují zvláště jedince cestující z vyspělých do rozvojových zemí. Nejčastější příčinou těchto průjmů jsou bakteriální patogeny, zejména *E. coli*, *Campylobacter jejuni* a zástupci rodů *Shigella* a *Salmonella*. Pravděpodobnými mechanismy, kterými probiotika zabraňují průjmům nebo je zmírňují, jsou stimulace imunitního systému, konkurence o vazebná místa na střevním epitelu a produkce bakteriocinů (Pandey et al., 2015).

Probiotika rovněž příznivě působí na onemocnění střev. Vieira et al. (2013) zmiňují jako účinné při léčbě zánětlivých onemocnění střev *L. casei*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* a *Streptococcus thermophilus*. Předpokládá se, že probiotické bakterie rovněž omezují kolonizaci žaludku bakterií *H. pylori*. Jako účinný se v tomto směru zdá být například *L. salivarius*, jenž produkuje značné množství mléčné kyseliny inhibující kolonizaci a růst *H. pylori* (Amara et Shibl, 2015).

Probiotika mohou působit preventivně na vznik zhoubného bujení v tlustém střevě. Mezi jejich možné antikancerogenní mechanismy patří zlepšení imunity hostitele, inaktivace karcinogenních sloučenin v lumenu střeva a antiproliferační účinek dosažený regulací apoptózy a diferenciací buněk. *L. reuteri* může například regulovat buněčnou proliferaci tím, že podporuje apoptózu aktivovaných imunitních buněk prostřednictvím inhibice ubiquitinace a zvýšením pro-apoptotické aktivity (Uccello et al., 2012). Probiotika také produkují antikancerogenní metabolity (např. mastné kyseliny s krátkým řetězcem a konjugovanou kyselinu linolovou). Zvýšenou produkcí slizu se posílí střevní epiteliální bariéra, což má rovněž ochranný účinek. Dalším možným mechanismem je inhibice bakterií produkujících škodlivé enzymy, které mohou v tlustém střevě přeměňovat prokarcinogeny na potenciální karcinogeny. Preventivní působení probiotik je dosaženo také jejich schopností upravit fyzikálně-chemické podmínky v tlustém střevě, například snížením pH (Kahouli et al., 2013; dos Reis et al., 2016). Účinnost probiotik při prevenci kolorektálního karcinomu však závisí na konkrétním probiotickém kmeni (Chong, 2014).

Probiotika rovněž pomáhají při zmírňování laktóзовé intolerance. Ta je způsobena nedostatečným trávením laktózy v důsledku nízké aktivity enzymu β -galaktosidázy. Příznaky laktóзовé intolerance zahrnují průjem, nadýmání, bolest břicha a plynatost. Kromě suplementace β -galaktosidázy v tabletách intoleranci zlepšuje podávání probiotik, jako například *L. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium longum* a *Bifidobacterium breve* (Vonk et al., 2012).

Některá probiotika (například *L. bulgaricus*, *L. reuteri*, *Bacillus coagulans*) mají hypocholesterolemický účinek. Jedním z mechanismů snížení cholesterolu v krevním séru může být dekonjugace žlučových kyselin, která je způsobena probiotiky produkovanými enzymy. Dekonjugované žlučové kyseliny jsou snadno vstřebány střevem. Tím se sníží obsah cholesterolu v krvi, a probiotika tak působí preventivně na vznik některých kardiovaskulárních onemocnění (Pandey et al., 2015).

S příznivými účinky probiotik je spojena celá řada mechanismů, které zahrnují produkci inhibičních látek (například peroxidu vodíku, bakteriocinů, organických kyselin), blokování míst, na která adherují patogenní bakterie, kompetici s patogeny o živiny, rozklad toxinů, blokování receptorů pro toxiny a imunomodulační účinky (Pandey et al., 2015).

Účinky daného kmene závisí na mnoha okolnostech. Segers et Lebeer (2014) zmiňují, že určujícími faktory je například použitá dávka probiotika, doba jeho podání, délka léčby, věk a genetické predispozice pacienta, ale také třeba jeho endogenní mikrobiom.

Pandey et al. (2015) uvádí, že výskyt nežádoucích účinků probiotik je vzácný, přičemž se nejčastěji projevují nadýmáním. Komplikace nastávají pouze ve výjimečných případech, zvláště u pacientů s oslabenou imunitou. Podle Fijan (2014) patří mezi nejčastěji pozorované nežádoucí účinky sepse, fungémie a ischemie GIT.

3.4.4 Prebiotika

Prebiotika jsou převážně nestravitelné složky potravy, které příznivě ovlivňují zdraví hostitele tím, že stimulují růst a/nebo aktivitu některých mikroorganismů v tlustém střevě, obvykle laktobacilů a bifidobakterií. Ideální prebiotikum by mělo být odolné vůči působení kyselin v žaludku a žlučových solí a hydrolytických enzymů ve střevě. Dále by se nemělo vstřebávat v horní části GIT a mělo by být snadno fermentovatelné prospěšným střevním mikrobiomem (Pandey et al., 2015). Swennen et al. (2007) navíc uvádí, že prebiotikum by mělo být účinné i v nízkých dávkách, nemělo by mít žádné vedlejší účinky a při skladování a zpracování by mělo být stálé.

Prebiotika jsou tvořena sacharidy z mnoha různých zdrojů, nejvýznamnějšími jsou však oligosacharidy. V rámci oligosacharidů je podstatný zejména inulin, produkt jeho hydrolýzy oligofruktosa a galaktooligosacharidy (Pandey et al., 2015). Prebiotikem je také například laktulosa, polydextróza či pšeničný dextrin (Slavin, 2013).

Prebiotika se vyznačují zdraví prospěšnými vlastnostmi. Vláknina je nepostradatelná pro správnou činnost střev. Svou přítomností a schopností vázat vodu zvyšuje hmotnost stolice a zvlhčuje ji, což zkracuje dobu průchodu střevy a usnadňuje defekaci. V důsledku tak probiotická vláknina působí preventivně proti vzniku zácpy, případně ji zmírňuje. Významná pro činnost GIT je především rozpustná vláknina, která je činností mikroorganismů ve střevech fermentována. Při jejím rozkladu vzniká vodík, metan, oxid uhličitý a mastné kyseliny s krátkým uhlíkatým řetězcem. Mastné kyseliny snižují pH, čímž se podpoří růst prospěšných střevních bakterií. Mastné kyseliny také příznivě ovlivňují vstřebávání vody a elektrolytů, a proto se snižuje riziko průjmu. Dále prebiotika zmírňují zánět při onemocněních

střev a působí preventivně proti vzniku kolorektálního karcinomu (Slavin, 2013; Pandey et al., 2015). Zvyšují biologickou dostupnost a příjem minerálů a omezují některé rizikové faktory vedoucí ke vzniku kardiovaskulárních onemocnění (Vieira et al., 2013). Tím, že podporují pocit sytosti, zároveň působí preventivně proti obezitě (Pokusaeva et al., 2011; Slavin, 2013). Sytost je způsobena více mechanismy. Může k ní přispívat delší doba potřebná ke žvýkání potravin bohatých na vlákninu. Delším žvýkáním se totiž podporuje tvorba slin a žaludeční kyseliny, což může zvětšit roztažení žaludku. Dalším mechanismem ovlivňujícím roztažení žaludku je schopnost rozpustné vlákniny vázat vodu. Předpokládá se, že roztažení žaludku spouští aferentní signály vyvolávající zdání plnosti. Prebiotická vláknina může navíc zpomalit vyprazdňování žaludku a snížit rychlost vstřebávání glukózy v tenkém střevě, což bývá rovněž spojováno s pocitem sytosti (Slavin, 2013).

3.4.5 Synbiotika

Synbiotika jsou kombinací probiotik s prebiotiky. Název "synbiotikum" odkazuje na skutečnost, že by v synbiotiku obsažená probiotika a prebiotika měly vykazovat vzájemný synergický účinek, přičemž stimulace růstu probiotik přispívá k udržení střevní homeostázy (Pandey et al., 2015). Typickým příkladem synbiotika je například jogurt obsahující bifidobakterie a oligofruktózu (Rada, 2010).

Probiotika nejčastěji užívaná v synbioticích zahrnují laktobacily, bifidobakterie, *Bacillus coagulans* či kvasinku *Saccharomyces boulardii*. Hlavní používaná prebiotika zahrnují oligosacharidy, jako jsou fruktooligosacharidy, galaktooligosacharidy, xylooligosacharidy a inulin. Zdravotní přínosy spojované s konzumací synbiotik zahrnují nárůst počtu laktobacilů a bifidobakterií, a tím zajištění vyváženého střevního mikrobiomu, zlepšení funkce jater u pacientů s cirhózou nebo zvýšení obranyschopnosti (Zhang et al., 2010).

Pandey et al. (2015) uvádí, že mezi různými bakteriálními kmeny i druhy existují značné rozdíly ve využití probiotických sacharidů, což je třeba brát v úvahu při vývoji nových synbiotik. Stejně tak je třeba zohlednit skutečnost, že probiotické kmeny mohou mít různé vlastnosti a klinické účinky, i když jsou stejného druhu (Vieira et al., 2013).

3.5 *In vitro* modely trávicí soustavy

GIT je vystaven různým složkám potravy, které jsou zde zpracovány, tráveny a transportovány přes střevní trakt. Díky jejich přímému nebo nepřímému působení mohou mít pozitivní či negativní vliv na zdraví (Verhoeckx et al., 2015). V posledních letech se proto zvýšil zájem porozumět více procesům při trávení potravin, a tím i podpořit jejich případné prospěšné účinky na lidské zdraví. Trávení různých látek v GIT lze studovat pomocí více metod, zahrnujících statické a dynamické *in vitro* modely, metody *in cellulo*, zvířata i lidi. *In vitro* modely jsou navzdory jejich relativní jednoduchosti velmi užitečné pro předpovídání výsledků trávení *in vivo* (Bohn et al., 2017).

In vitro modely simulující trávení mají velký význam v oborech týkajících se výživy. Například Shani-Levi et al. (2017) předpovídají slibné využití *in vitro* modelů trávení při usnadnění vývoje racionálních potravin přizpůsobených specifickým skupinám lidské populace, jako jsou kojenci, starší osoby či pacienti s cystickou fibrózou nebo chirurgickým zákrokem žaludku. Wickham et al. (2009) zase zmiňuje *in vitro* modely trávení vyvinuté pro posouzení stability potravinových alergenů během trávení. Kromě výživy a potravinářství mají také uplatnění například ve farmacii a toxikologii, neboť s jejich pomocí lze stanovit změny ve struktuře, absorpci a stravitelnost látek (Hur et al., 2011; Minekus et al., 2014).

Zkoumané látky zahrnují léčiva, mykotoxiny, proteiny, lipidy, sacharidy, mikronutrienty, stopové prvky, ale také sekundární rostlinné metabolity, jako například karotenoidy a polyfenolové sloučeniny. Simulované modely trávení zpravidla zahrnují fázi trávení v ústech, žaludku a tenkém střevě, případně fermentaci ve střevě tlustém. Cílem je napodobení přirozených fyziologických *in vivo* podmínek, s ohledem zejména na zastoupení a koncentraci trávicích enzymů a solí, pH a dobu trávení (Minekus et al., 2014). Výhodou *in vitro* modelů je, že jsou oproti *in vivo* experimentům rychlejší, méně nákladné a nejsou eticky sporné (Ting et al., 2015). Díky jejich opakovatelnosti, možnosti řízení podmínek při simulovaných procesech a jednoduchému vzorkování jsou *in vitro* modely vhodné pro vytváření hypotéz (Ortega et al., 2009; Minekus et al., 2014).

3.5.1 Statické *in vitro* modely

Ačkoli existují počítačové modely, které simulují dynamická hlediska trávení, jako třeba změny pH a koncentrace enzymů v průběhu trávení, statické modely převažují. Statické *in vitro* modely, také někdy nazývané biochemické modely (Wickham et al., 2009), se vyznačují v každé fázi trávení stálými poměry enzymů, solí, žluči a dalších látek vzhledem

k množství matrice. V těchto modelech je trávení v žaludku a v tenkém střevě simulováno ve dvou následných fázích. V průběhu každé fáze je substrát po určitou dobu inkubován se simulovanou žaludeční a poté simulovanou střevní šťávou. Hodnota pH je udržována na stálé hodnotě zpravidla použitím pufru. Statické *in vitro* modely jsou vhodné pro zkoumání trávení spíše jednodušších substrátů (Minekus et al., 2014) a zpravidla nejsou schopny napodobovat dynamické *in vivo* fyziologické stavy, například peristaltiku GIT (Ting et al., 2015). Nicméně Bohn et al. (2017) zdůrazňují, že v některých případech mohou být statické *in vitro* modely fyziologicky relevantní, například při sledování reakce na glukózu.

Trávení je souhrn dynamických procesů, při kterých dochází kromě působení trávicích šťáv, enzymů, motility GIT a dalších činitelů také k interakci s epitelem a imunitním systémem (Bohn et al., 2017). Tento složitý systém se do určité míry u jedinců liší v závislosti na věku, celkovém zdravotním stavu či návycích. Odlišnosti mohou být například ve žvýkání, vyprazdňování žaludku, střevní motilitě, sekreci trávicích šťáv nebo v době trávení. Nevýhodou *in vitro* modelů proto může být to, že tuto individualitu nezachycují (Minekus et al., 2014). Lo Curto et al. (2011) dále uvádí jako hlavní omezení statických *in vitro* modelů to, že produkty trávení se během inkubace neodstraní a mohou tak potenciálně inhibovat aktivitu enzymů a životaschopnost testovaných probiotik. Na druhou stranu *in vitro* studie s řízenými podmínkami zpravidla vykazují oproti výsledkům *in vivo* pokusů nižší variabilitu, a tak je zpravidla nutný menší počet opakování pro získání dostatečného množství dat pro statistické vyhodnocení (Minekus et al., 2014). Skutečnost, že variabilita mezi testovanými subjekty ve studiích *in vivo* ovlivňuje interpretaci údajů, zmiňuje také Ortega et al. (2009). Aviles et al. (2013) navíc vyzdvihuje cenovou dostupnost *in vitro* modelů využívajících simulované gastrointestinální šťávy.

S použitím gastrointestinálních modelů by v budoucnu mohlo být například možné regulovat hlad, a to díky cílenému zásahu do rychlosti trávení lipidů a do umístění tohoto trávení v rámci GIT. *In vitro* modely trávení však především poskytují znalosti důležité pro léčbu onemocnění spojených s výživou, jako jsou srdeční choroby, diabetes, rakovina a hypertenze (McClements et Li, 2010).

Simulace gastrointestinálního trávení je využívána v mnoha oblastech výzkumu. Existují proto různé modely trávení, které se liší zejména zdroji enzymů a jejich aktivitou, hodnotami pH, minerálním složením, poměrem matrice a trávicích tekutin a dobou trávení. Tyto rozdíly však znemožňují srovnávání výsledků. Z tohoto důvodu byla v roce 2014 zavedena standardizovaná statická InfoGest metoda, která má umožnit srovnatelnost získaných výsledků. Používané hodnoty pH, iontové složení a enzymové aktivity jsou pevně dané

od začátku experimentu. Hlavními omezeními tohoto zjednodušeného modelu jsou právě pevně daná hodnota pH v jednotlivých fázích a doba jejich trvání. Z hlediska srovnatelnosti výsledků se však jedná spíše o výhodu. Metoda zohledňuje fyziologické podmínky a zahrnuje tři fáze: orální, žaludeční a fázi tlustého střeva. Vzhledem k velmi krátkému setrvání v dutině ústní je možné orální fázi u většiny tekutých vzorků vynechat (Minekus et al., 2014; Verhoeckx et al., 2015). Tato standardizovaná metoda byla ověřována v rozsáhlém mezilaboratorním pokusu (Egger et al., 2016).

In vitro gastrointestinální extrakce je často používána k posouzení uvolňování chemických látek z matrice a jako rychlá screeningová metoda pro odhad jejich relativní biologické dostupnosti. Například Tao et al. (2009) ve své studii zkoumali pomocí statického *in vitro* gastrointestinálního modelu perorální biologickou dostupnost pesticidů z kontaminované půdy.

4 Materiál a metody

4.1 Materiál

Bakterie *Lactobacillus brevis* (CCM 3805), *L. gasseri* (DSMZ 20243), *L. plantarum* (MILCOM 195) a *Salmonella enterica* (ATCC 13076) (z České sbírky mikroorganismů; CCM) a *Escherichia coli* a *Salmonella* sp. (ze sbírky Katedry mikrobiologie, výživy a dietetiky, ČZU).

Chlorid draselný, dihydrogenfosforečnan draselný, hydrogenuhličitan sodný (zfiltrovaný přes 0,2 μ m nylonový filtr), chlorid sodný, chlorid hořečnatý hexahydrát, uhličitan amonný, kyselina chlorovodíková, hydroxid sodný (Lach-Ner, ČR), propidium iodid (Thermo Fischer Scientific, USA), pepsin, pankreatin, žluč (Sigma-Aldrich, USA), fosfátový pufr (DPBS – Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline; Sigma-Aldrich, USA).

Multifunkční reader infinite M200 (Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria), vodní lázeň s integrovanou třepačkou (Schoeller Instruments, ČR), vodní lázeň (Huber Kältemnaschinenbau AG, DE), termostat (Schoeller Instruments, ČR), centrifuga (Universal 320, Schoeller Instruments, ČR), analytické váhy Practum 213–1S (Sartorius, Německo), laboratorní míchačka Vortex (IKA[®], DE) a souprava na čištění vody (Merck Millipore, USA).

4.2 Metody

4.2.1 Příprava bakteriální suspenze

Bakteriální inokula byla anaerobně inkubována přes noc (max. 20 hodin) ve Wilkins-Chalgren mediu (Oxoid, UK) v termostatu při teplotě 37 °C. Médium bylo od bakterií odděleno centrifugací (10 minut, 2000 rpm) a bakterie byly následně 3 \times promyty pufrům.

Na finální koncentraci 10⁸ KTJ/ml bylo upraveno změřením optické denzity při vlnové délce 600 nm (Infinite M200; Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria).

4.2.2 *In vitro* model trávicí soustavy

V experimentu byl použit statický *in vitro* model trávicí soustavy podle Minekus et al. (2014). Tento *in vitro* model zahrnuje tři fáze: orální, žaludeční a fázi tenkého střeva. Orální fázi je možné u tekutých vzorků vynechat, proto byly vzorky v praktické části vystaveny pouze fázi trávení v žaludku a v tenkém střevě.

Příprava roztoků

Žaludeční fáze trávení

Pro přípravu žaludeční fáze byl k roztoku simulované žaludeční šťávy (SGF; viz tab. 1) přidán 0,3M roztok CaCl_2 (koncentrace ve výsledném roztoku 0,075 mM). Dále byl přidán enzym pepsin (zásobní roztok 6 250 U/ml, koncentrace ve výsledném roztoku 2000 U/ml). Žaludeční fáze trávení probíhá při pH 3,0, pro snížení pH na tuto hodnotu byla použita 1M HCl. Připravený roztok žaludeční fáze byl smíchán se vzorkem bakteriální suspenze v poměru 1:1 a směs byla inkubována při 37 °C za stálého třepání (100 rpm) ve vodní lázni po dobu 2 hodin.

Střevní fáze trávení

Pro přípravu střevní fáze byl k roztoku simulované střevní šťávy (SIF; viz tab. 1) přidán enzym pankreatin (zásobní roztok 200 U/ml, výsledná koncentrace trypsinu v pankreatinu 100 U/ml). Dále byla přidána 20mM žluč (koncentrace ve výsledném roztoku 10 mM) a roztok 0,3M CaCl_2 (koncentrace ve výsledném roztoku 0,3 mM). Střevní fáze trávení probíhá při pH 7,0, pro úpravu pH na tuto hodnotu byl použit roztok 1M NaOH. Připravený roztok střevní fáze byl smíchán s žaludeční tráveninou v poměru 1:1 a směs byla inkubována při 37 °C za stálého třepání (100 rpm) ve vodní lázni po dobu 2 hodin.

Všechny použité roztoky byly vytemperovány na 37 °C ve vodní lázni, s výjimkou pankreatinu, který byl uchovávan na ledu. Objemy chemikálií pro přípravu SGF a SIF podle Tabulky 1 byly doplněny deionizovanou vodou na objem 400 ml. Po přidání enzymů, žluči a vody byl objem 500 ml a bylo dosaženo výsledných koncentrací solí v tomto objemu.

Tabulka 1: Příprava SGF a SIF, upraveno podle Minekus et al. (2014)

Chemikálie	Koncentrace zr.		SGF (pH 3)		SIF (pH 7)	
			1 SGF	2 SGF	1 SIF	2 SIF
	g/l	mol/l	ml	mmol/l	ml	mmol/l
KCl	37,3	0,5	6,9	6,9	6,8	6,8
KH_2PO_4	68	0,5	0,9	0,9	0,8	0,8
NaHCO_3	84	1	12,5	25	42,5	85
NaCl	117	2	11,8	47,2	9,6	38,4
$\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$	30,5	0,15	0,4	0,12	1,1	0,33
$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	48	0,5	0,5	0,5	-	-

zr – zásobní roztok; 1- ml zásobního roztoku pro přípravu 0,5 l; 2 - výsledná koncentrace soli v 0,5 l; SGF – simulovaná žaludeční šťáva; SIF – simulovaná střevní šťáva

4.2.3 Měření fluorescence

Pro měření fluorescence bylo použito fluorescenční barvivo propidium iodid, jež barví DNA mrtvých buněk. Z tohoto důvodu byla, pro získání informace o celkovém počtu buněk, část vzorků před a po simulovaném procesu trávení usmrcena při teplotě 75 °C (vodní lázeň, Huber Kältemaschinenbau AG, DE) po dobu 15 minut pro laktobacily a 30 minut pro patogeny. Počet živých buněk byl poté získán jako rozdíl celkového počtu buněk a počtu mrtvých buněk ve vzorku. Nárůst nebo pokles počtu životaschopných bakterií byl zjištěn porovnáním počtu živých buněk před a po procesu trávení.

Na mikrotitrační destičku bylo napipetováno 100 μ l vzorku a 10 μ l propidium iodidu (10 mM). Vzorek s barvivem byl řádně protřepán a poté inkubován v termostatu ve tmě při 37 °C po dobu 30 minut. Po uplynutí této doby byla změřena fluorescence při vlnové délce 535 nm/600 nm (Reader infinite M200, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria).

4.2.4 Statistická analýza

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr všech měření \pm směrodatná odchylka. Zároveň byly podrobeny metodě Studentova rozdělení se statistickou významností na hladině $p < 0,05$. Statistické vyhodnocení získaných dat bylo provedeno v programu Microsoft Excel a v softwaru IBM SPSS Statistics.

5 Výsledky

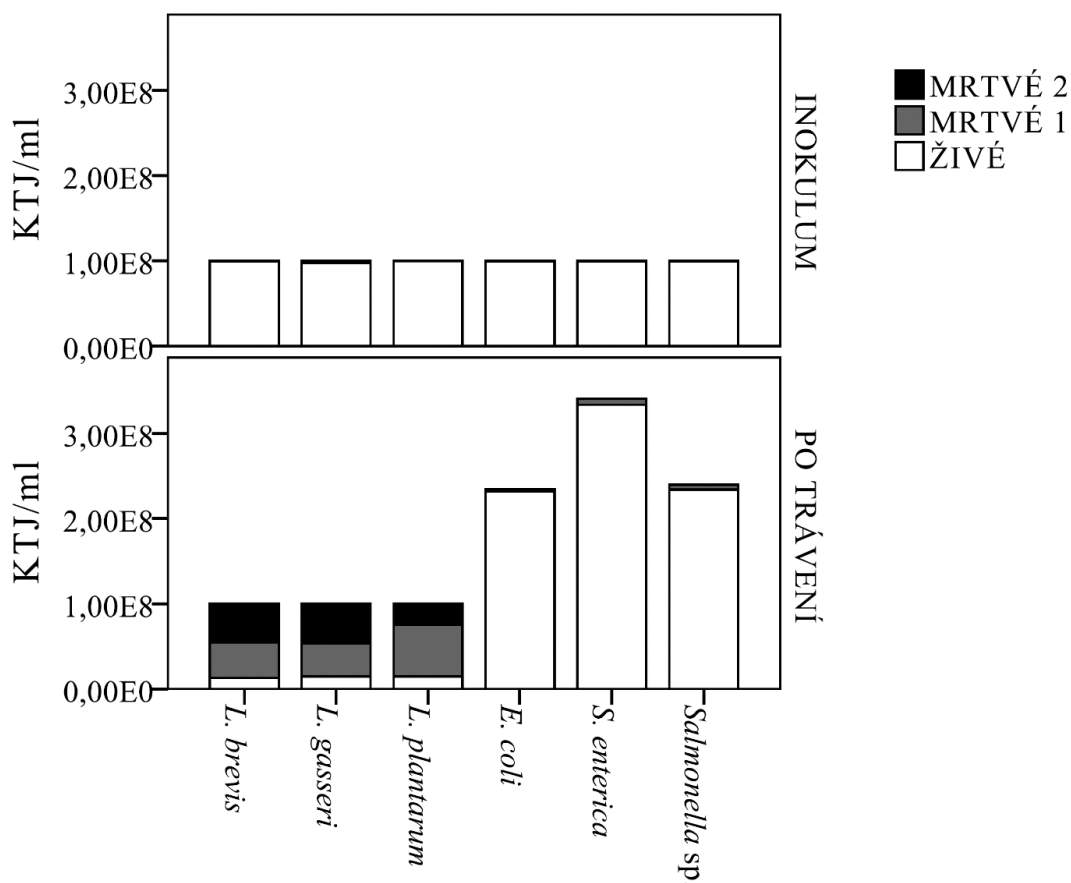
Všechny testované laktobacily vykazovaly podobnou míru životaschopnosti. U *L. brevis* dosahovala životaschopnost buněk před *in vitro* trávením $99,71 \pm 0,42$ %, po trávení $14,75 \pm 5,85$ %. Podobně tomu bylo i u *L. gasseri*, kde bylo na začátku $97,55 \pm 0,78$ % živých buněk a na konci trávení $14,76 \pm 4,42$ %. U *L. plantarum* se životaschopnost snížila z původních $98,93 \pm 0,59$ % na pouhých $12,76 \pm 1,91$ %. Patogeny se vyznačovaly oproti laktobacilům velmi vysokou životaschopností s pouze minimálním počtem mrtvých buněk. Životaschopnost *E. coli* se snížila průměrně jen o 0,5 %, když počet živých buněk poklesl z $99,23 \pm 1,32$ % na $98,73 \pm 1,23$ %. *S. enterica* vykazovala ještě nižší pokles životaschopnosti než *E. coli*, průměrně pouze 0,3 %. Před trávením u ní bylo $98,85 \pm 1,71$ % živých buněk, po trávení $98,55 \pm 1,56$ %. U *Salmonelly* sp. se počet živých buněk snížil z $99,47 \pm 0,50$ % na $98,28 \pm 1,98$ %. U patogenů zároveň došlo k nárůstu celkového počtu bakterií. Nárůst byl srovnáván vzhledem k výchozí koncentraci, která byla u všech testovaných bakterií 1×10^8 KTJ/ml. U *E. coli* byl zjištěn 2,4× nárůst celkového počtu buněk, u *S. enterica* 3,4× nárůst a u *Salmonella* sp. 2,4× nárůst. Všechny výsledky životaschopností bakterií po *in vitro* trávení jsou statisticky průkazné.

Výsledky jsou znázorněné v Tabulce 2 a Grafu 1. „MRTVÉ 1“ jsou mrtvé buňky, „MRTVÉ 2“ jsou buňky, které se pravděpodobně rozpadly, a nebyly proto měřitelné.

Tabulka 2: Výsledky životaschopnosti laktobacilů a patogenů.

	životaschopnost bakterií v %	
	před <i>in vitro</i> trávením	po <i>in vitro</i> trávení
<i>L. brevis</i>	99,71 ± 0,42	14,75 ± 5,85*
<i>L. gasseri</i>	97,55 ± 0,78	14,76 ± 4,42*
<i>L. plantarum</i>	98,93 ± 0,59	12,76 ± 1,91*
<i>E. coli</i>	99,23 ± 1,32	98,73 ± 1,23*
<i>S. enterica</i>	98,85 ± 1,71	98,55 ± 1,56*
<i>Salmonella</i> sp.	99,47 ± 0,50	98,28 ± 1,98*

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr ± směrodatná odchylka; hvězdička * značí hodnoty statisticky významné na hladině $p < 0,05$



Graf 1: Znázornění životaschopnosti laktobacilů a patogenů před *in vitro* trávením (v inokulu) a po *in vitro* trávení vzhledem k výchozí koncentraci 1×10^8 KTJ/ml. Bílá barva – živé buňky; šedá barva – buňky, které simulované trávení nepřežily; černá barva – buňky neměřitelné v důsledku jejich rozpadu. (KTJ – kolonie tvořící jednotka)

6 Diskuze

Se změnou střevního mikrobiomu souvisí mnoho onemocnění, zahrnujících například hypertenzi, hypercholesterolémii, obezitu, průjmy, zánětlivá onemocnění střev, alergie či dokonce karcinomy (Daliri et Lee, 2015; Vandenplas et al., 2015). Změnu mikrobiomu může způsobovat stres, alkohol, strava s vysokým obsahem tuku nebo cukru, genetické poruchy, chlor a fluorid v pitné vodě, antibiotika, vystavení toxinům v životním prostředí a řada dalších faktorů. Střevní dysbiózu mohou naopak zlepšovat probiotika (Amara et Shibl, 2015). Do střev by se měla dostat živá a ve vysokém počtu, při průchodu GIT jsou však vystavena nepříznivým podmínkám, jako jsou nízké pH v žaludku, žlučové kyseliny a trávicí enzymy. Z toho důvodu je odolnost a životaschopnost probiotik stěžejní pro jejich funkci. Buňky bakterií jsou proto vybaveny různými obrannými mechanismy pro přežití v nepříznivém prostředí GIT (Bove et al., 2013). Vandenplas et al. (2015) nicméně poukazují na fakt, že přežití probiotických mikroorganismů v GIT není vždy nezbytnou podmínkou pro probiotické účinky. Například při příjmu živého *Streptococcus thermophilus* se do tenkého střeva dostává laktáza, což může být považováno za probiotickou aktivitu, ačkoliv samotný bakteriální kmen průchod GIT nepřežije. Dále Vandenplas et al. (2015) zdůrazňují, že by probiotika měla být schopná proliferace ve střevech.

Životaschopnost je specifická pro každý druh a kmen (Papadimitriou et al., 2015). Interakce mezi přítomnými druhy/kmeny je významným faktorem určujícím růst, životaschopnost a adhezi probiotik v GIT v důsledku synergických a antagonistických vztahů mezi bakteriemi (Ranadheera et al., 2014). Záleží také na způsobu uchování a kultivace bakterií, na potravinové matrici, přístupnosti prebiotik a fyziologickém stavu probiotik. V neposlední řadě souvisí s genetickou a fyziologickou individualitou jedince a s jeho návyky při konzumaci potravin (Kun Lee et Salminen, 2009). Z výše uvedeného tak vyplývá, že nevýhodou našeho experimentu *in vitro* trávení bylo, že kmeny bakterií byly testovány pouze jednotlivě, a nebylo tak možné mezi nimi zjistit případné interakce ovlivňující životaschopnost. Absence mikrobiomu, jež je běžně v GIT přítomný, mohla také ovlivnit výsledky.

Významná je odolnost probiotik vůči nepříznivým podmínkám při průchodu GIT. Tyto podmínky se liší v různých částech trávicího traktu. V žaludku jsou probiotika vystavena velmi nízkému pH, solím a enzymům, jako je například pepsin a lysozym (Horáčková et al., 2011). Kyselá žaludeční prostředí vyvolává změny na lipidech a proteinech bakteriální membrány, ale také narušuje DNA a peptidoglykany gram pozitivních bakterií. Proto mají bakterie různé mechanismy, kterými opravují vzniklá poškození či kterými mění metabolické procesy

(Sanhueza et al., 2015). Ve střevě jsou přítomny soli žlučových kyselin, které rovněž poškozují bakteriální membránu. Některé bakterie se však dokáží vyrovnat s jejich negativním působením pomocí hydrolázy solí žlučových kyselin, což je pro jejich životaschopnost klíčové. Štěpením se totiž konjugované soli žlučových kyselin stávají méně bakteriostatické (Papadimitriou et al., 2015; Vandenplas et al., 2015). Výhoda námi použitého *in vitro* modelu GIT spočívá v tom, že odolnost vůči kyselému prostředí a žluči nebyla studována odděleně, ale obě fáze trávení následovaly přirozeně za sebou, což více odpovídá reálným podmínkám (Papadimitriou et al., 2015). Nevýhodou naopak může být použití enzymů, jež nejsou humánního původu. Enzymy v GIT člověka se totiž liší od purifikovaných komerčních nehumánních enzymů tím, že v kombinaci se žlučovými solemi, bilirubinem, hlenem a dalšími látkami existují v různých izoformách, což může rovněž ovlivnit přežití bakterií (Faye et al., 2012).

Všechny námi testované laktobacily (*L. brevis*, *L. gasseri* a *L. plantarum*) se běžně vyskytují v GIT teplokrevných živočichů včetně člověka, což mohlo pozitivně ovlivnit výsledky experimentu. Je totiž dobře známo, že probiotické bakterie, které nejsou střevního původu, jako jsou například *Lactobacillus bulgaricus* a *Lactococcus lactis*, jsou v porovnání s přirozenou gastrointestinální mikroflórou citlivější na žluč (Ranadheera et al., 2014). To potvrzuje také de Vries et al. (2006), kteří uvádí nízkou schopnost přežití *Lactococcus lactis* v *in vivo* studii.

Vlastností probiotik, která ovlivňuje jejich přežití, je také schopnost kolonizace GIT. Po průchodu žaludkem s kyselým prostředím a duodenem se žlučovými solemi se probiotický kmen dostává do ilea a tlustého střeva, kde jsou příznivější podmínky. Nicméně je v těchto částech GIT vysoká koncentrace bakterií (okolo 10^7 buněk/ml chymu v ileu a 10^{11} buněk/ml chymu v tlustém střevě). Z toho důvodu probíhá kompetice probiotického kmene s původním mikrobiomem o dostupné živiny, pokud pro kmen nejsou dodány specifické substráty (Vandenplas et al., 2015).

Probiotické kmeny často potřebují pro zajištění co nejlepšího přežití průchodu GIT specifickou maticí. Touto maticí může být tradičně mléko, kefir či jogurty. Méně konvenčními jsou třeba cereálie, sýry, párky nebo čokoláda (Vandenplas et al., 2015). Výrazný ochranný účinek mléka na životaschopnost laktobacilů zmiňuje například studie provedená na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze (Horáčková et al., 2011). Botes et al. (2008) ve své práci dokonce uvádí nárůst počtu laktobacilů při užití kojenecké dětské výživy jako matrice při simulovaném trávení v tenkém střevě. Ve studii Silva et al. (2015) testovali jako maticí pro průchod simulovaným GIT čerstvý sýr, přičemž rezistence vybraných 28 kmenů

bakterií mléčného kvašení vůči kyselým podmínkám, žluči a pankreatickým enzymům byla hodnocena *in vitro*. Tato studie prokázala, že čerstvý sýr výrazně zlepšil přežití probiotických bakterií, neboť při tříhodinové simulaci trávení nebyl pozorován žádný pokles životaschopnosti ani v kyselých podmínkách, ani v prostředí se žlučí a pankreatinem. Rovněž Rolim et al. (2015) došli ve svém výzkumu ke stejnému závěru, když prokázali, že kozí sýr má během simulovaných gastrointestinálních podmínek ochranný účinek na životaschopnost kmene *L. rhamnosus* EM1107. Michida et al. (2006) prokázali pozitivní vliv obilovin (konkrétně extraktů z ječmene) na životaschopnost *L. plantarum* při simulovaném gastrointestinálním trávení. Valero-Cases et Frutos (2017) uvádějí, že přídavek inulinu ve fermentovaných zeleninových džusech zlepšil životaschopnost *L. plantarum* po *in vitro* trávení. Pozitivním působením čokolády jako ochranné matrice se ve své práci využívající dynamický *in vitro* model žaludku zabývají Klindt-Toldam et al. (2016). Ting et al. (2015) uvádí ovlivnění trávicích enzymů přítomnými složkami potravy, jako jsou lipidy, proteiny a škrob. Nevýhodou našeho experimentu se proto zdá být absence potravinové matrice, a to jednak z důvodu její možné ochranné funkce a jednak kvůli tomu, že zvolené hodnoty pH se mohou od skutečných lišit. Nebyla totiž zohledněna skutečnost, že pH se v GIT před jídlem, během jení a po něm liší (Papadimitriou et al., 2015).

Přítomnost či absence potravinové matrice významně určuje hodnoty pH, kterým je probiotikum vystaveno. Ačkoli může být kyselé žaludeční prostředí zmírněno prvotním pufovacím účinkem potravinové matrice, při déletrvajícím trávení v žaludku je však probiotikum vystaveno kyselým podmínkám po delší dobu (Vandenplas et al., 2015). Ranadheera et al. (2012) ve své studii prokázali, že pokud byla probiotika vystavena podmínkám s nižším pH (pH 2,0), došlo k významnému snížení jejich životaschopnosti při simulovaném průchodu žaludkem ve srovnání s hodnotami pH 3,0 a 4,0. Za účelem zvýšení odolnosti probiotických bakterií vůči těmto náročným podmínkám jsou vyvíjeny metody jejich zapouzdření (Vandenplas et al., 2015). Zapouzdření je proces, při kterém jsou probiotické bakterie zabudovány do matrice, která je chrání před negativními vlivy prostředí GIT a umožní jim uvolnění řízenou rychlostí za určitých podmínek. Nejčastěji jsou pro zapouzdření používané potravinářské polymery, jako je alginát, chitosan, karboxymethylcelulóza, xanthanová guma, škrob, karagenan, želatina a pektin (Shori, 2017). Účinnost zapouzdření bakterií v alginátové matrici naznačují výsledky Ding et Shah (2007), rovněž Silva et al. (2018) dospěli k závěru, že zapouzdření probiotik fruktooligosacharidy zajistí vyšší životaschopnost *L. acidophilus*. Zvýšení odolnosti zapouzdřeného *L. rhamnosus* GG v kyselém prostředí a vůči proteolytickému štěpení uvádí Li et al. (2016). Shori (2017) zmiňuje aktuální trend použití

mléčných proteinů jako zapouzdřovacích matric. Podle Mizock (2015) obecně vykazují zapouzdřené probiotické bakterie oproti nezapouzdřeným kmenům až pětkrát vyšší účinnost při kolonizaci střev. Nicméně ochranný účinek zapouzdření se liší v závislosti na kmenu bakterií a rozdílných podmínkách, kterým jsou vystaveny (Gbassi et al., 2011).

Všechny testované laktobacily vykazovaly podobnou životaschopnost (*L. brevis* $14,75 \pm 5,85$ %, *L. gasseri* $14,76 \pm 4,42$ %, *L. plantarum* $12,76 \pm 1,91$ %). Podle Lo Curto et al. (2011) obecně přežívá průchod GIT přibližně 10–30 % probiotických buněk. Naše výsledky pro *L. plantarum* se shodují s de Vries et al. (2006), který uvádí *in vitro* životaschopnost kmenů *L. plantarum* v GIT v širokém rozmezí 0,003–10 %. Dále de Vries et al. (2006) zmiňují výsledky *in vivo* studie na zdravých dobrovolnících, ve které byla po jednorázovém podání 10^8 buněk *L. plantarum* NCIMB 8826 výrazně vyšší životaschopnost tohoto kmene, konkrétně 7 ± 2 % v ileu, v porovnání s *Lactococcus lactis* ($1 \pm 0,8$ %) a *L. fermentum* ($0,5 \pm 0,5$ %). Po 7 dnech podávání *L. plantarum* NCIMB 8826 byla stanovena ve stolici dobrovolníků životaschopnost tohoto kmene až 25 %.

Zajímavé výsledky by mohlo přinést testování dalších laktobacilů, například komerčního probiotického kmene *L. acidophilus* LA5, u kterého je v literatuře zmiňována odolnost vůči kyselému prostředí (Bove et al., 2012). Jensen et al. (2012) zase zmiňují výbornou životaschopnost *L. reuteri* v simulovaných podmínkách GIT a Vinderola et Reinheimer (2003) prokázali vysokou rezistenci vůči žaludeční šťávě a žlučovým solím kromě *L. acidophilus* také u *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Výsledky životaschopnosti patogenů byly značně odlišné od laktobacilů, neboť všechny patogeny vykazovaly vysokou viabilitu nad 95 % a zároveň se zvýšily jejich celkové počty. Nárůst bakterií kmene *E. coli* O157:H7 v *in vitro* modelu distální části tenkého střeva zmiňuje například Pradel et al. (2015). Vysvětlením, proč patogenní bakterie dosahovaly v našem experimentu mnohem vyšší životaschopnosti oproti laktobacilům, by mohla být skutečnost, že patogeny mají schopnost díky produkci amoniaku zvyšovat pH v trávicím traktu, což pro ně vytváří příznivější podmínky. Mnohé patogeny totiž upřednostňují zásadité či neutrální prostředí (Amara et Shibl, 2015). Nárůst *E. coli* by mohl být způsoben tím, že jednou z hlavních složek žluči je taurin (kyselina 2-aminoethansulfonová), který *E. coli* využívá jako zdroj síry, pokud nemá přístup k anorganickým síranům nebo cysteinu. Ačkoli jsou sírany zpravidla přítomny ve střevech ve velkém množství, v našem případě nebyla při *in vitro* trávení použita potravinová matrice, *E. coli* proto získávala síru právě z taurinu. Přednostní využívání zdrojů síry ovlivňuje intracelulární hladinu fosfoadenosin-5'-fosfosulfátu, který produkcí adhezních faktorů pozitivně působí na utváření biofilmu

(Rossi et al., 2017). Významnou vlastností pro přežití bakterií v GIT je jejich odolnost vůči žluči. Bylo prokázáno, že některé komenzální i patogenní kmeny *E. coli* i někteří zástupci rodu *Salmonella* tuto odolnost díky rozmanitým mechanismům mají (Sistrunk et al., 2016). Například Aviles et al. (2013) ve své studii potvrdili, že zvýšená životaschopnost *Salmonella enterica* korelovala se zvýšenou expresí genů *rpoS* a *otsB*, které se aktivují při vystavení salmonel stresovým podmínkám, jako je například kyselé prostředí v žaludku či přítomnost žluči. Tyto geny tak pravděpodobně mají pro patogeny protektivní účinek. Dále Aviles et al. (2013) uvádí, že přežití bakterií ve stresových podmínkách mohou ovlivňovat i genetické rozdíly mezi jednotlivými sérotypy. Dalším možným vysvětlením vysoké životaschopnosti patogenů by také mohl být možný vliv quorum sensing na jejich přežití a růst ve stresových podmínkách, jak uvádí Park et al. (2017). Zdůrazňují však, že se účinek quorum sensing může mezi jednotlivými druhy a kmeny lišit. Také potravinová matrice a ekosystém hostitele mohou působit na quorum sensing zatím neznámým způsobem. Pro předvídání růstu a životaschopnosti bakterií je proto nezbytné lépe porozumět vzájemnému působení mezi quorum sensing a podmínkami prostředí. Nicméně je stále nutné brát v úvahu, že v některých případech bakterie vykazují navzdory srovnatelným podmínkám nečekané výsledky (Park et al., 2017).

Pochopení mechanismů důležitých pro přežití patogenů v GIT má nesporný význam, neboť může přispět k zavedení nových metod prevence a léčby mnoha onemocnění (Alvarez-Ordóñez et al., 2011).

7 Závěr

Hypotéza, že některé bakterie mají vyšší schopnost přežít průchod trávicím traktem než jiné, se potvrdila. Životaschopnost jednotlivých druhů laktobacilů se příliš nelišila, byla však výrazně odlišná od životaschopnosti patogenů. U patogenů se po trávení zvýšil jejich celkový počet, zatímco celkový počet laktobacilů po trávení zůstal stejný. Je však nutné brát v úvahu skutečnost, že výsledky byly získány metodou *in vitro* a v případě *in vivo* podmínek se mohou odlišovat, neboť je obtížné vytvořit přesnou simulaci vysoce komplexních fyzikálně chemických a fyziologických dějů probíhajících v trávicím traktu.

Význam regulace mikrobiomu pomocí probiotik a prebiotik, případně synbiotik, bude při prevenci i léčbě mnoha onemocnění pravděpodobně nabývat na významu, mimo jiné i kvůli narůstající rezistenci na antibiotika. Probiotika vykazují velmi různorodou škálu biologických účinků, neustále jsou zkoumány jejich nové vlastnosti, a proto všechny účinky a mechanismy působení probiotických bakterií ukáže až budoucnost.

8 Seznam literatury

- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., Dewhirst, F. E. 2005. Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*. 43 (11). 5721-5732.
- Ajslev, T. A., Andersen, C. S., Gamborg, M., Sørensen, T. I. A., Jess, T. 2011. Childhood overweight after establishment of the gut microbiota: the role of delivery mode, pre-pregnancy weight and early administration of antibiotics. *International Journal of Obesity*. 35 (4). 522-529.
- Alvarez-Ordóñez, A., Begley, M., Prieto, M., Messens, W., Lopez, M., Bernardo, A., Hill, C. 2011. *Salmonella* spp. survival strategies within the host gastrointestinal tract. *Microbiology*. 157 (12). 3268-3281.
- Amara, A. A., Shibl, A. 2015. Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 23 (2). 107-114.
- Ansari, S., Yamaoka, Y. 2017. Survival of *Helicobacter pylori* in gastric acidic territory. *Helicobacter*. 22 (4). 12386-12398.
- Arweiler, N. B., Hellwig, E., Sculean, A., Hein, N., Ausschill, T. M. 2004. Individual Vitality Pattern of *in situ* Dental Biofilms at Different Locations in the Oral Cavity. *Caries Research*. 38 (5). 442-447.
- Avila, M., Ojcius, D. M., Yilmaz, Ö. 2009. The Oral Microbiota: Living with a Permanent Guest. *DNA and Cell Biology*. 8 (28). 405-411.
- Aviles, B., Klotz, C., Eifert, J., Williams, R., Ponder, M. 2013. Biofilms promote survival and virulence of *Salmonella enterica* sv. Tennessee during prolonged dry storage and after passage through an *in vitro* digestion system. *International Journal of Food Microbiology*. 162 (3). 252-259.
- Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., Golding, M., Le Feunteun, S., Macierzanka, A., Menard, O., Miralles, B., Moscovici, A., Portmann, R., Recio, I., Rémond, D., Santé-Lhoutelier, V., Wooster, T. J., Lesmes, U., Mackie, A. R., Dupont, D. 2017. Correlation between *in vitro* and *in vivo* data on food digestion. What can we predict with static *in vitro* digestion models?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1-23.
- Botes, M., van Reenen, C. A., Dicks, L. M. T. 2008. Evaluation of *Enterococcus mundtii* ST4SA and *Lactobacillus plantarum* 423 as probiotics by using a gastro-intestinal model with infant milk formulations as substrate. *International Journal of Food Microbiology*. 128 (2). 362-370.

- Boulangé, C. L., Neves, A. L., Chilloux, J., Nicholson, J. K., Dumas, M. E. 2016. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Medicine*. 8 (1).
- Bove, P., Gallone, A., Russo, P., Capozzi, V., Albenzio, M., Spano, G., Fiocco, D. 2012. Probiotic features of *Lactobacillus plantarum* mutant strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 96 (2). 431-441.
- Bove, P., Russo, P., Capozzi, V., Gallone, A., Spano, G., Fiocco, D. 2013. *Lactobacillus plantarum* passage through an oro-gastro-intestinal tract simulator: Carrier matrix effect and transcriptional analysis of genes associated to stress and probiosis. *Microbiological Research*. 168 (6). 351-359.
- Cueva, C., Gil-Sánchez, I., Ayuda-Durán, B., González-Manzano, S., González-Paramás, A., Santos-Buelga, C., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M. 2017. An Integrated View of the Effects of Wine Polyphenols and Their Relevant Metabolites on Gut and Host Health. *Molecules*. 22 (12). 99-114.
- Chauhan, S. V., Chorawala, M. R. 2012. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 3 (3). 711-726.
- Chong, E. S. L. 2014. A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 30 (2). 351-374.
- Daliri, E. B.-M., Lee, B. H. 2015. New perspectives on probiotics in health and disease. *Food Science and Human Wellness*. 4 (2). 56-65.
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. V., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J., Turnbaugh, P. J. 2013. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 505 (7484). 559-563.
- De Vries, M. C., Vaughan, E. E., Kleerebezem, M., de Vos, W. M. 2006. *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*. 16 (9). 1018-1028.
- Ding, W. K., Shah, N. P. 2007. Acid, Bile, and Heat Tolerance of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria. *Journal of Food Science*. 72 (9). M446-M450.
- Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., Knight, R. 2010. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107 (26). 11971-11975.

- Dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Siqueira, N. P., Rosa, D. D., da Silva, L. L., Peluzio, M. do C. G. 2016. Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition Research*.
- Egger, L., Ménard, O., Delgado-Andrade, C., Alvito, P., Assunção, R., Balance, S., Barberá, R., Brodkorb, A., Cattenoz, T., Clemente, A., Comi, I., Dupont, D., Garcia-Llatas, G., Lagarda, M. J., Le Feunteun, S., JanssenDuijghuijsen, L., Karakaya, S., Lesmes, U., Mackie, A. R., Martins, C., Meynier, A., Miralles, B., Murray, B. S., Pihlanto, A., Picariello, G., Santos, C. N., Simsek, S., Recio, I., Rigby, N., Rioux, L. E., Stoffers, H., Tavares, A., Tavares, L., Turgeon, S., Ulleberg, E. K., Vegarud, G. E., Vergères, G., Portmann, R. 2016. The harmonized INFOGEST *in vitro* digestion method: From knowledge to action. *Food Research International*. 88. 217-225.
- Espín, J. C., González-Sarriás, A., Tomás-Barberán, F. A. 2017. The gut microbiota: A key factor in the therapeutic effects of (poly)phenols. *Biochemical Pharmacology*. 139. 82-93.
- Fallani, M., Young, D., Scott, J., Norin, E., Amarri, S., Adam, R., Aguilera, M., Khanna, S., Gil, A., Edwards, C. A., Doré, J. 2010. Intestinal Microbiota of 6-week-old Infants Across Europe: Geographic Influence Beyond Delivery Mode, Breast-feeding, and Antibiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 51 (1). 77-84.
- Faye, T., Tamburello, A., Vegarud, G. E., Skeie, S. 2012. Survival of lactic acid bacteria from fermented milks in an *in vitro* digestion model exploiting sequential incubation in human gastric and duodenum juice. *Journal of Dairy Science*. 95 (2). 558-566.
- Fijan, S. 2014. Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 11 (12). 4745-4767.
- Forsythe, S. J. 2010. *The microbiology of safe food*. 2nd ed. Wiley-Blackwell Pub. Chichester, United Kingdom. p. 496. ISBN: 978-140-5140-058.
- Ganong, W. F. 2005. *Přehled lékařské fyziologie: 20. vydání*. Galén. Praha. 890 s. ISBN: 80-726-2311-7.
- Gbassi, G. K., Vandamme, T., Yolou, F. S., Marchioni, E. 2011. *In vitro* effects of pH, bile salts and enzymes on the release and viability of encapsulated *Lactobacillus plantarum* strains in a gastrointestinal tract model. *International Dairy Journal*. 21 (2). 97-102.
- Gronbach, K., Eberle, U., Muller, M., Olschlager, T. A., Dobrindt, U., Leithauser, F., Niess, J. H., Doring, G., Reimann, J., Autenrieth, I. B., Frick, J. S. 2010. Safety of Probiotic *Escherichia coli* Strain Nissle 1917 Depends on Intestinal Microbiota and Adaptive Immunity of the Host. *Infection and Immunity*. 78 (7). 3036-3046.

- He, X., Marco, M. L., Slupsky, C. M. 2013. Emerging Aspects of Food and Nutrition on Gut Microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61 (40). 9559-9574.
- Hempel, S., Newberry, S. J., Maher, A. R., Wang, Z., Miles, J. N., Shanman, R., Johnsen, B., Shekelle, P. G. 2012. Probiotics for the Prevention and Treatment of Antibiotic-Associated Diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of the American Medical Association*. 307 (18). 1959-1969.
- Horáčková, Š., Žaludová, K., Plocková, M. 2011. Stability of Selected *Lactobacilli* in the Conditions Simulating Those in the Gastrointestinal Tract. *Czech Journal of Food Sciences*. 29. S30–S35.
- Hur, S. J., Lim, B. O., Decker, E. A., McClements, D. J. 2011. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry*. 125 (1). 1-12.
- Isolauri, E., Rautava, S., Salminen, S. 2012. Probiotics in the Development and Treatment of Allergic Disease. *Gastroenterology Clinics of North America*. 41 (4). 747-762.
- Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., Reddy, D. N. 2015. Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*. 21 (29). 8787-8803.
- Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K., Axelsson, L. 2012. *In vitro* testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 153 (1-2). 216-222.
- Jin, L. J., Lamster, I. B., Greenspan, J. S., Pitts, N. B., Scully, C., Warnakulasuriya, S. 2016. Global burden of oral diseases: emerging concepts, management and interplay with systemic health. *Oral Diseases*. 22 (7). 609-619.
- Kahouli, I., Tomaro-Duchesneau, C., Prakash, S. 2013. Probiotics in colorectal cancer (CRC) with emphasis on mechanisms of action and current perspectives. *Journal of Medical Microbiology*. 62 (8). 1107-1123.
- Kittnar, O. 2011. *Lékařská fyziologie*. Grada. Praha. 800 s. ISBN: 978-80-247-3068-4.
- Klindt-Toldam, S., Larsen, S. K., Saaby, L., Olsen, L. R., Svenstrup, G., Müllertz, A., Knøchel, S., Heimdal, H., Nielsen, D. S., Zielińska, D. 2016. Survival of *Lactobacillus acidophilus* NCFM® and *Bifidobacterium lactis* HN019 encapsulated in chocolate during *in vitro* simulated passage of the upper gastrointestinal tract. *LWT - Food Science and Technology*. 74. 404-410.
- Koolman, J., Röhm, K. H. 2012. *Barevný atlas biochemie*. Grada. Praha. 512 s. ISBN: 978-802-4729-770.

- Kort, R., Caspers, M., van de Graaf, A., van Egmond, W., Keijser, B., Roeselers, G. 2014. Shaping the oral microbiota through intimate kissing. *Microbiome*. 2 (1).
- Kun Lee, Y., Salminen, S. 2009. *Handbook of probiotics and prebiotics*. 2nd ed. A John Wiley. Hoboken, New Jersey, USA. p. 596. ISBN: 978-047-0135-440.
- Lee, Y. K. 2014. What could probiotic do for us? *Food Science and Human Wellness*. 3 (2). 47-50.
- Li, R., Zhang, Y., Polk, D. B., Tomasula, P. M., Yan, F., Liu, L. S. 2016. Preserving viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG *in vitro* and *in vivo* by a new encapsulation system. *Journal of Controlled Release*. 230. 79-87.
- Llorca, L., Pérez-Pérez, G., Urruzuno, P., Martinez, M. J., Iizumi, T., Gao, Z., Sohn, J., Chung, J., Cox, L., Simón-Soro, A., Mira, A., Alarcón, T. 2017. Characterization of the Gastric Microbiota in a Pediatric Population According to *Helicobacter pylori* Status. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 36 (2). 173-178.
- Lo Curto, A., Pitino, I., Mandalari, G., Dainty, J. R., Faulks, R. M., John Wickham, M. S. 2011. Survival of probiotic lactobacilli in the upper gastrointestinal tract using an *in vitro* gastric model of digestion. *Food Microbiology*. 28 (7). 1359-1366.
- Manigandan, T., Mangaiyarkarasi, S. P., Hemalatha, R., Hemalatha, V. T., Murali, N. P. 2012. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics - A Review. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 5 (2). 295-304.
- Marieb, E. N., Wilhelm, P. B., Mallatt, J. 2017. *Human anatomy*. 8th ed. Pearson. San Francisco, USA. p. 896. ISBN: 978-0-134-24381-8.
- McClements, D. J., Li, Y. 2010. Review of *in vitro* digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food & Function*. 1 (1). 32-59.
- McFarland, L. V. 2006. Meta-Analysis of Probiotics for the Prevention of Antibiotic Associated Diarrhea and the Treatment of *Clostridium difficile* Disease. *The American Journal of Gastroenterology*. 101 (4). 812-822.
- McKee, T., McKee, J. R. 2014. *Biochemistry: the molecular basis of life*. Updated 5th ed. Oxford University Press. New York. p. 944. ISBN: 978-019-9316-700.
- Mekkes, M. C., Weenen, T. C., Brummer, R. J., Claassen, E. 2014. The development of probiotic treatment in obesity: a review. *Beneficial Microbes*. 5 (1). 19-28.
- Merchant, H. A., Liu, F., Orlu Gul, M., Basit, A. W. 2016. Age-mediated changes in the gastrointestinal tract. *International Journal of Pharmaceutics*. 512 (2). 382-395.

- Michida, H., Tamalampudi, S., Pandiella, S. S., Webb, C., Fukuda, H., Kondo, A. 2006. Effect of cereal extracts and cereal fiber on viability of *Lactobacillus plantarum* under gastrointestinal tract conditions. *Biochemical Engineering Journal*. 28 (1). 73-78.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., Brodkorb, A. 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Function*. 5 (6). 1113-1124.
- Mizock, B. A. 2015. Probiotics. *Disease-a-Month*. 61 (7). 259-290.
- Murray, R. K. 2002. *Harperova Biochemie*. 23. vydání, 3. české vydání. Nakladatelství H+H. Jinočany. 872 s. ISBN: 80-731-9013-3.
- Ohara-Nemoto, Y., Haraga, H., Kimura, S., Nemoto, T. K. 2008. Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria. *Journal of Medical Microbiology*. 57 (1). 95-99.
- Ortega, N., Reguant, J., Romero, M. P., Macià, A., Motilva, M. J. 2009. Effect of Fat Content on the Digestibility and Bioaccessibility of Cocoa Polyphenol by an *in Vitro* Digestion Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57 (13). 5743-5749.
- Pace, F., Pace, M., Quartarone, G. 2015. Probiotics in digestive diseases: Focus on *Lactobacillus* GG. *Minerva Gastroenterologica e Dietologica*. 61 (4). 273-292.
- Pandey, K. R., Naik, S. R., Vakil, B. V. 2015. Probiotics, prebiotics and synbiotics: a review. *Journal of Food Science and Technology*. 52 (12). 7577-7587.
- Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Folligné, B., Alexandraki, V., Kazou, M., Pot, B., Tsakalidou, E. 2015. Discovering probiotic microorganisms: *in vitro*, *in vivo*, genetic and omics approaches. *Frontiers in Microbiology*. 6.
- Park, H., Lee, K., Yeo, S., Holzapfel, W. 2017. Autoinducer-2 Quorum Sensing Influences Viability of *Escherichia coli* O157:H7 under Osmotic and *In Vitro* Gastrointestinal Stress Conditions. *Frontiers in Microbiology*. 8.
- Parker, S., Winston, R. 2007. *Lidské tělo*. Euromedia Group - Knižní klub. Praha. 288 s. ISBN: 978-802-4222-110.
- Peery, A. F., Crockett, S. D., Barritt, A. S., Dellon, E. S., Eluri, S., Gangarosa, L. M., Jensen, E. T., Lund, J. L., Pasricha, S., Runge, T., Schmidt, M., Shaheen, N. J., Sandler, R. S. 2015.

- Burden of Gastrointestinal, Liver, and Pancreatic Diseases in the United States. *Gastroenterology*. 149 (7). 1731-1741.
- Pokusaeva, K., Fitzgerald, G. F., van Sinderen, D. 2011. Carbohydrate metabolism in *Bifidobacteria*. 6 (3). 285-306.
- Pradel, N., Etienne-Mesmin, L., Thévenot, J., Cordonnier, C., Blanquet-Diot, S., Livrelli, V. 2015. *In vitro* adhesion properties of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and humans. *Frontiers in Microbiology*. 6.
- Rada, V. 2010. Využití probiotik, prebiotik a synbiotik. *Interní medicína pro praxi*. 12 (2). 92–97.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., Baines, S. K. 2012. *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. *Food Research International*. 49 (2). 619-625.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., Baines, S. K. 2014. Effect of dairy probiotic combinations on *in vitro* gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. *Journal of Functional Foods*. 8. 18-25.
- Rehfeld A., Nylander M., Karnov K. 2017. The Digestive System I. The Alimentary Canal. In: *Compendium of Histology: a theoretical and practical guide*. Springer Science Business Media. New York, NY. p. 675. ISBN: 978-331-9418-711.
- Rolim, F. R. L., dos Santos, K. M. O., de Barcelos, S. C., do Egito, A. S., Ribeiro, T. S., da Conceição, M. L., Magnani, M., de Oliveira, M. E. G., Queiroga, R. de C. R. do E. 2015. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in simulated gastrointestinal conditions and its inhibitory effect against pathogenic bacteria in semi-hard goat cheese. *LWT - Food Science and Technology*. 63 (2). 807-813.
- Rossi, E., Cimdins, A., Lüthje, P., Brauner, A., Sjöling, Å., Landini, P., Römling, U. 2017. "It's a gut feeling" – *Escherichia coli* biofilm formation in the gastrointestinal tract environment. *Critical Reviews in Microbiology*. 44 (1). 1-30.
- Sanhueza, E., Paredes-Osses, E., González, C. L., García, A. 2015. Effect of pH in the survival of *Lactobacillus salivarius* strain UCO 979C wild type and the pH acid acclimated variant. *Electronic Journal of Biotechnology*. 18 (5). 343-346.
- Scaldaferri, F., Gerardi, V., Mangiola, F., Lopetuso, L. R., Pizzoferrato, M., Petito, V., Papa, A., Stojanovic, J., Poscia, A., Cammarota, G., Gasbarrini, A. 2016. Role and mechanisms of action of *Escherichia coli* Nissle 1917 in the maintenance of remission in ulcerative colitis patients: An update. *World Journal of Gastroenterology*. 22 (24). 5505-5511.

- Segers, M. E., Lebeer, S. 2014. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG - host interactions. *Microbial Cell Factories*. 13 (Suppl. 1). S1-S7.
- Seifert, B., Charvátová, E. Infekce *Helicobacter pylori* [online]. Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně. 2001 [cit. 2018-02-09].
Dostupné z <<http://www.cls.cz/dokumenty2/os/r022.rtf>>.
- Sender, R., Fuchs, S., Milo, R. 2016. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biology*. 14 (8).
- Shani-Levi, C., Alvito, P., Andrés, A., Assunção, R., Barberá, R., Blanquet-Diot, S., Bourlieu, C., Brodkorb, A., Cilla, A., Deglaire, A., Denis, S., Dupont, D., Heredia, A., Karakaya, S., Giosafatto, C. V. L., Mariniello, L., Martins, C., Ménard, O., El, S. N., Vegarud, G. E., Ulleberg, E., Lesmes, U. 2017. Extending *in vitro* digestion models to specific human populations: Perspectives, practical tools and bio-relevant information. *Trends in Food Science & Technology*. 60. 52-63.
- Shier, D., Butler, J., Lewis, R. 2015. Hole's essentials of human anatomy. 12 ed. McGraw-Hill Education. New York, USA. p. 656. ISBN: 978-0073403724.
- Shori, A. B. 2017. Microencapsulation Improved Probiotics Survival During Gastric Transit. *HAYATI Journal of Biosciences*. 24 (1). 1-5.
- Silva, C. C. G., Domingos-Lopes, M. F. P., Magalhães, V. A. F., Freitas, D. A. S. R., Coelho, M. C., Rosa, H. J. D., Dapkevicius, M. L. N. E. 2015. Short communication: Latin-style fresh cheese enhances lactic acid bacteria survival but not *Listeria monocytogenes* resistance under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Dairy Science*. 98 (7). 4377-4383.
- Silva, K. C. G., Cezarino, E. C., Michelon, M., Sato, A. C. K. 2018. Symbiotic microencapsulation to enhance *Lactobacillus acidophilus* survival. *LWT: Food Science and Technology*. 89. 503-509.
- Sistrunk, J. R., Nickerson, K. P., Chanin, R. B., Rasko, D. A., Faherty, C. S. 2016. Survival of the Fittest: How Bacterial Pathogens Utilize Bile To Enhance Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 29 (4). 819-836.
- Slavin, J. 2013. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*. 5 (12). 1417- 435.
- Sonnenburg, E. D., Smits, S. A., Tikhonov, M., Higginbottom, S. K., Wingreen, N. S., Sonnenburg, J. L. 2016. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations. *Nature*. 529 (7585). 212-215.

- Sonnenburg, E. D., Sonnenburg, J. L. 2014. Starving our Microbial Self: The Deleterious Consequences of a Diet Deficient in Microbiota-Accessible Carbohydrates. *Cell Metabolism*. 20 (5). 779–786.
- Sordillo, J. E., Zhou, Y., McGeachie, M. J., Ziniti, J., Lange, N., Laranjo, N., Savage, J. R., Carey, V., O'Connor, G., Sandel, M., Strunk, R., Bacharier, L., Zeiger, R., Weiss, S. T., Weinstock, G., Gold, D. R., Litonjua, A. A. 2017. Factors influencing the infant gut microbiome at age 3-6 months: Findings from the ethnically diverse Vitamin D Antenatal Asthma Reduction Trial (VDAART). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 139 (2). 482-491.
- Sugano, K., Tack, J., Kuipers, E. J., Graham, D. Y., El-Omar, E. M., Miura, S., Haruma, K., Asaka, M., Uemura, N., Malfertheiner, P. 2015. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut*. 64 (9). 1353-1367.
- Swennen, K., Courtin, C. M., Delcour, J. A. 2007. Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotic Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 46 (6). 459-471.
- Šilhánková, L. 2002. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii. 3. vydání, opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Academia. Praha. 363 s. ISBN: 80-200-1024-6.
- Tachedjian, G., Aldunate, M., Bradshaw, C. S., Cone, R. A. 2017. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in Microbiology*. 168 (9-10). 782-792.
- Tao, S., Lu, Y., Zhang, D., Yang, Y., Yang, Y., Lu, X., Sai, D. 2009. Assessment of Oral Bioaccessibility of Organochlorine Pesticides in Soil Using an *In Vitro* Gastrointestinal Model. *Environmental Science & Technology*. 43 (12). 4524-4529.
- Thum, C., Cookson, A. L., Otter, D. E., McNabb, W. C., Hodgkinson, A. J., Dyer, J., Roy, N. C. 2012. Can Nutritional Modulation of Maternal Intestinal Microbiota Influence the Development of the Infant Gastrointestinal Tract? *Journal of Nutrition*. 142 (11). 1921-1928.
- Ting, Y., Zhao, Q., Xia, C., Huang, Q. 2015. Using *in Vitro* and *in Vivo* Models To Evaluate the Oral Bioavailability of Nutraceuticals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63 (5). 1332-1338.
- Todar, K. Bacterial Pathogens of Humans [online]. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. 2012a [cit. 2018-02-08]. Dostupné z <http://textbookofbacteriology.net/medical_5.html>.
- Todar, K. Lactic Acid Bacteria: *Lactobacilli* [online]. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. 2012b [cit. 2018-02-11]. Dostupné z <http://textbookofbacteriology.net/lactics_3.html>.

- Todar, K. Lactic Acid Bacteria: Probiotics and Lactic Acid Bacteria [online]. Todar's Online Textbook of Bacteriology. 2012c [cit. 2018-02-11].
Dostupné z <http://textbookofbacteriology.net/lactics_4.html>.
- Todar, K. Pathogenic *E. coli* [online]. Todar's Online Textbook of Bacteriology. 2012d [cit. 2018-02-07]. Dostupné z <<http://textbookofbacteriology.net/e.coli.html>>.
- Todar, K. *Salmonella* and Salmonellosis [online]. Todar's Online Textbook of Bacteriology. 2012e [cit. 2018-02-08]. Dostupné z <<http://textbookofbacteriology.net/salmonella.html>>.
- Todar, K. *Shigella* and Shigellosis [online]. Todar's Online Textbook of Bacteriology. 2012f [cit. 2018-02-08]. Dostupné z <<http://textbookofbacteriology.net/Shigella.html>>.
- Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. V., Espín, J. C. 2016. Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences to human health. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 19 (6). 471-476.
- Trojan, S., Schreiber, M. 2002. Atlas biologie člověka: 430 modelových otázek k přijímacím zkouškám na medicínu: 100 obrazových podkladů k opakování a procvičování. Scientia. Praha. ISBN: 80-718-3257-X.
- Uccello, M., Malaguarnera, G., Basile, F., D'agata, V., Malaguarnera, M., Bertino, G., Vacante, M., Drago, F., Biondi, A. 2012. Potential role of probiotics on colorectal cancer prevention. *BMC Surgery*. 12 (Suppl 1). S35-S42.
- Valero-Cases, E., Frutos, M. J. 2017. Effect of Inulin on the Viability of *L. plantarum* during Storage and *In Vitro* Digestion and on Composition Parameters of Vegetable Fermented Juices. *Plant Foods for Human Nutrition*. 72 (2). 161-167.
- Vandenplas, Y., Huys, G., Daube, G. 2015. Probiotics: an update. *Jornal de Pediatria*. 91 (1). 6-21.
- Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D., Wichers, H. 2015. The Impact of Food Bioactives on Health: *In Vitro* and *Ex Vivo* Models. Springer International Publishing. Cham. p. 338. ISBN: 978-3-319-15791-7.
- Vieira, A. T., Teixeira, M. M., Martins, F. S. 2013. The Role of Probiotics and Prebiotics in Inducing Gut Immunity. *Frontiers in Immunology*. 4. 1-12.
- Vinderola, C. G., Reinheimer, J. A. 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*. 36 (9-10). 895-904.
- Vonk, R. J., Reckman, G. A. R., Harmsen, H. J. M., Priebe, M. G. Probiotics and Lactose Intolerance [online]. INTECH Open Access Publisher. 2012 [cit. 2018-02-10].

Dostupné z <<https://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/39620.pdf>>.

- Walker, W. A., Shuba Iyengar, R. 2015. Breastmilk, Microbiota and Intestinal Immune Homeostasis. *Pediatric Research*. 77 (1). 220-228.
- Walsh, C. J., Guinane, C. M., O'Toole, P. W., Cotter, P. D. 2014. Beneficial modulation of the gut microbiota. *FEBS Letters*. 588 (22). 4120-4130.
- Wickham, M., Faulks, R., Mills, C. 2009. *In vitro* digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Molecular Nutrition & Food Research*. 53 (8). 952-958.
- Williams, D. W., Kuriyama, T., Silva, S., Malic, S., Lewis, M. A. O. 2011. Candida biofilms and oral candidosis: treatment and prevention. *Periodontology 2000*. 55 (1). 250-265.
- World Health Organization. 2006. Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation. Rome. p. 50. ISBN: 978-925-1055-137.
- Zbořil, V., Prokopová, L., Hertlová, M. 2005. Mikroflóra trávicího traktu: klinické souvislosti. Grada. Praha. 156 s. ISBN: 80-247-0584-2.
- Zhang, M. M., Cheng, J. Q., Lu, Y. R., Yi, Z. H., Yang, P., Wu, X. T. 2010. Use of pre-, pro- and synbiotics in patients with acute pancreatitis: A meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*. 16 (31). 3970-3978.
- Zhu, K., Hölzel, C. S., Cui, Y., Mayer, R., Wang, Y., Dietrich, R., Didier, A., Bassitta, R., Märtlbauer, E., Ding, S. 2016. Probiotic *Bacillus cereus* Strains, a Potential Risk for Public Health in China. *Frontiers in Microbiology*. 7.

9 Seznam použitých zkratk

DNA – deoxyribonukleová kyselina

DPBS – Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline

GIT – gastrointestinální trakt

KTJ – kolonie tvořící jednotka, z angl. CFU (colony forming unit)

rpm – počet otáček za minutu, z angl. revolution per minute

SGF – simulovaná žaludeční šťáva (Simulated Gastric Fluid)

SIF – simulovaná střevní šťáva (Simulated Intestinal Fluid)

WHO – Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)

10 Seznam obrázků, tabulek a grafů

Obrázek 1: Stavba trávicí soustavy	6
Obrázek 2: Schematické znázornění vrstev stěny GIT	7
Obrázek 3: Struktura střevního klku	9
Obrázek 4: <i>E. coli</i>	22
Obrázek 5: <i>Salmonella</i>	23
Obrázek 6: <i>Lactobacillus acidophilus</i>	25
Obrázek 7: <i>Bifidobacterium longum</i>	26
Obrázek 8: Charakteristika ideálního probiotického kmene	27
Tabulka 1: Příprava SGF a SIF	36
Tabulka 2: Výsledky životaschopnosti laktobacilů a patogenů	39
Graf 1: Znázornění životaschopnosti laktobacilů a patogenů	39