

Střevní mikrobiom – mozek naší imunity

**Helena Tlaskalová-Hogenová,
a spolupracovníci**
*Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.,
Vídeňská 1083, Praha 4
ÚIM, 1. LF UK Praha*
tlaskalo@biomed.cas.cz



30.9.2021
**Současné trendy ve speciální výživě –
střevní mikrobiom**
Národní zemědělské muzeum Praha



Imunita (obranyschopnost)

Přirozená (vrozená, antigenně nespecifická) imunita

Buněčná: makrofágy, fagocyty (PMN), NK buňky, dendritické buňky

Humorální: komplement, cytokiny, antimikrobiální peptidy

Rozpoznání mikrobiálních znaků (MAMP) pomocí receptorů (PRR)

Adaptivní (získaná, specifická)

Buněčná: T lymfocyty

Humorální: protilátky produkované B lymfocyty

Rozpoznání antigen specifickými receptory na T a B buňkách

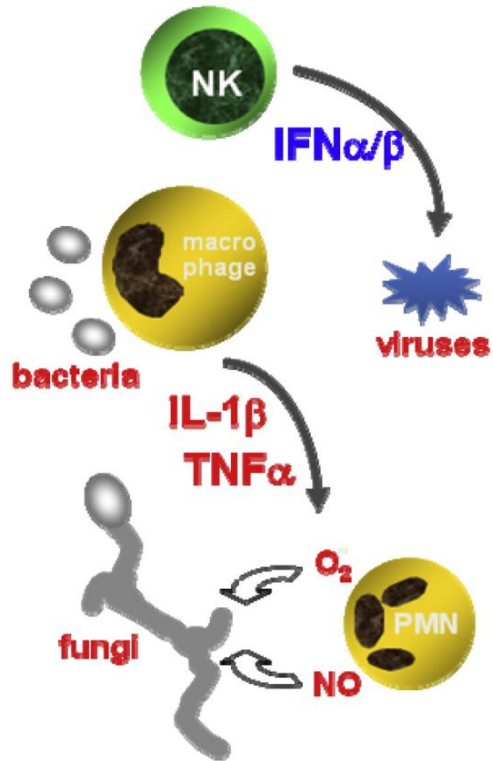
Vzájemná spolupráce přirozené a adaptivní imunity



Imunitní systém

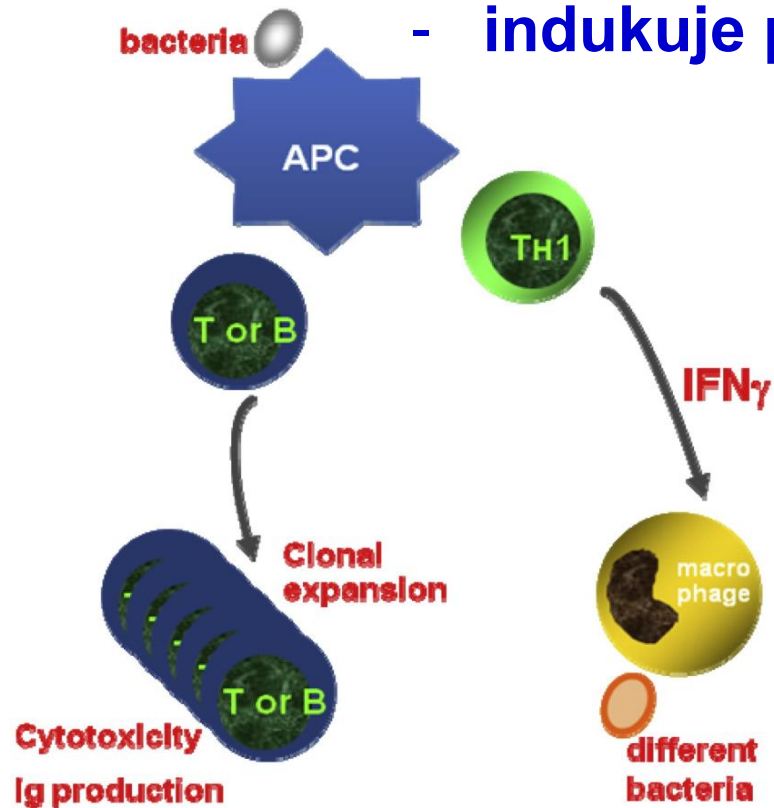
Přirozená imunita

- rychlá
- nespecifická
- není paměť



Adaptivní imunita

- pomalá
- specifická
- indukuje paměť



Imunita - na epitelem krytých površích (sliznice a kůže)

- Povrch sliznic zažívacího traktu..... 300 m²
- Povrch kůže ~ 1,8 m²
- Imunogenní podněty:
 - mikrobiota 10¹⁴ bakterií
 - potrava ~ tuny
 - antigeny, alergeny ve vzduchu
- 90% původců infekčních chorob vstupuje sliznicemi
- 80% imunologicky aktivních buněk organismu je sdruženo se sliznicemi (70% ve střevě)

Funkce

- Fyziologické (transport živin, plynů, ...)
- Imunologické (bariera, tolerance)

Buňky a faktory slizniční imunity

Povrch sliznic 400 m²

Komensální
mikroorganismy
~10¹⁴



Potraviny

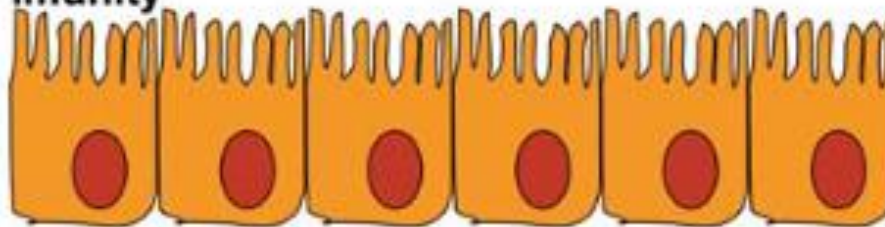


Patogeny

Složky přirozené
imunity

Protilátky

Epitelové
buňky



Obměna
epitelových buněk
~10¹¹/den

Buňky imunitního
systému



Dendritické
buňky



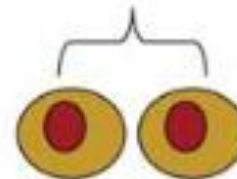
Eozinofily
Mastocyty



Neutrofilý



Makrofágy



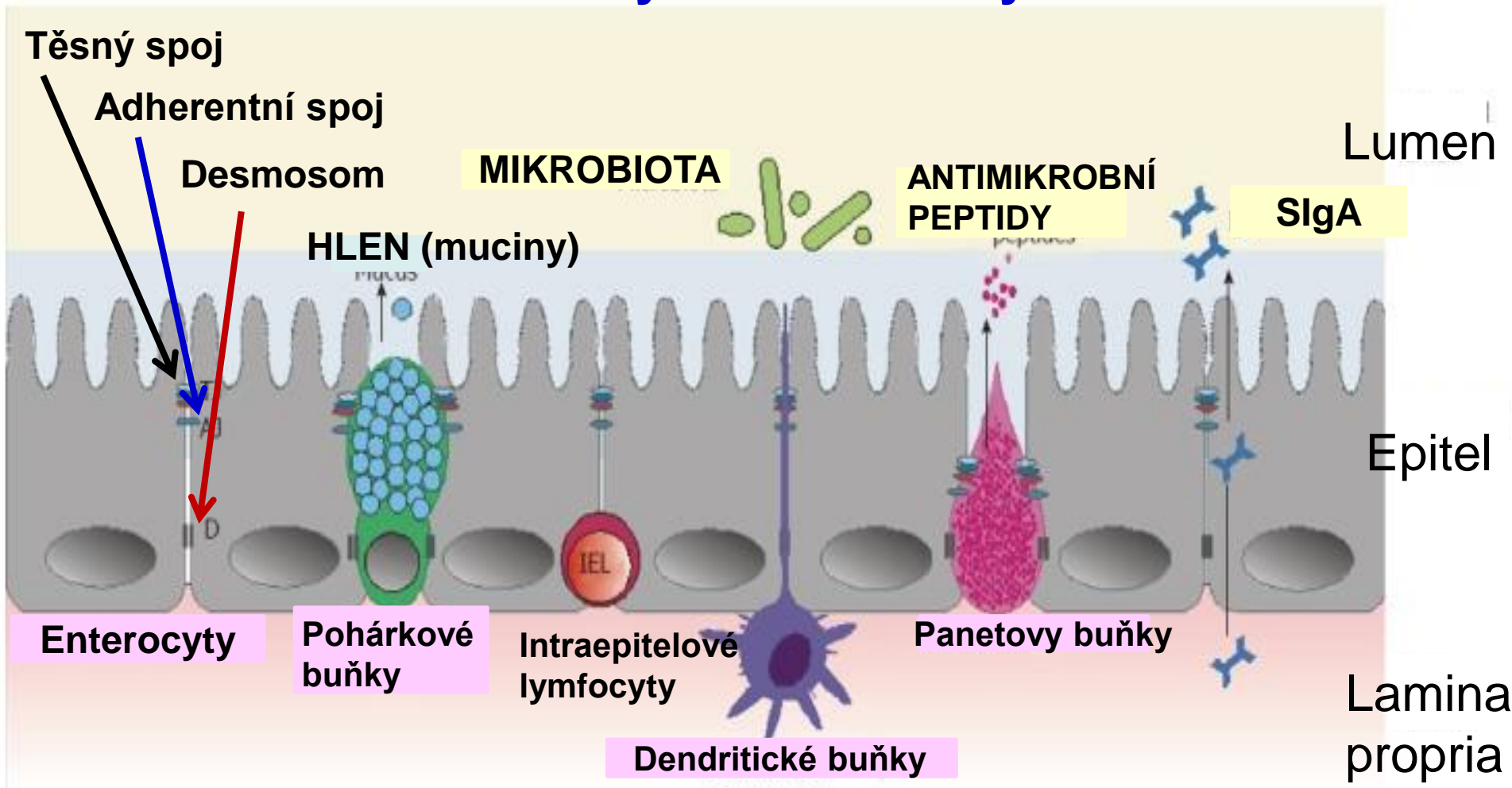
B-lymfocyty
a plazmatické
buňky

80%

T-lymfocyty

Barierová funkce sliznic

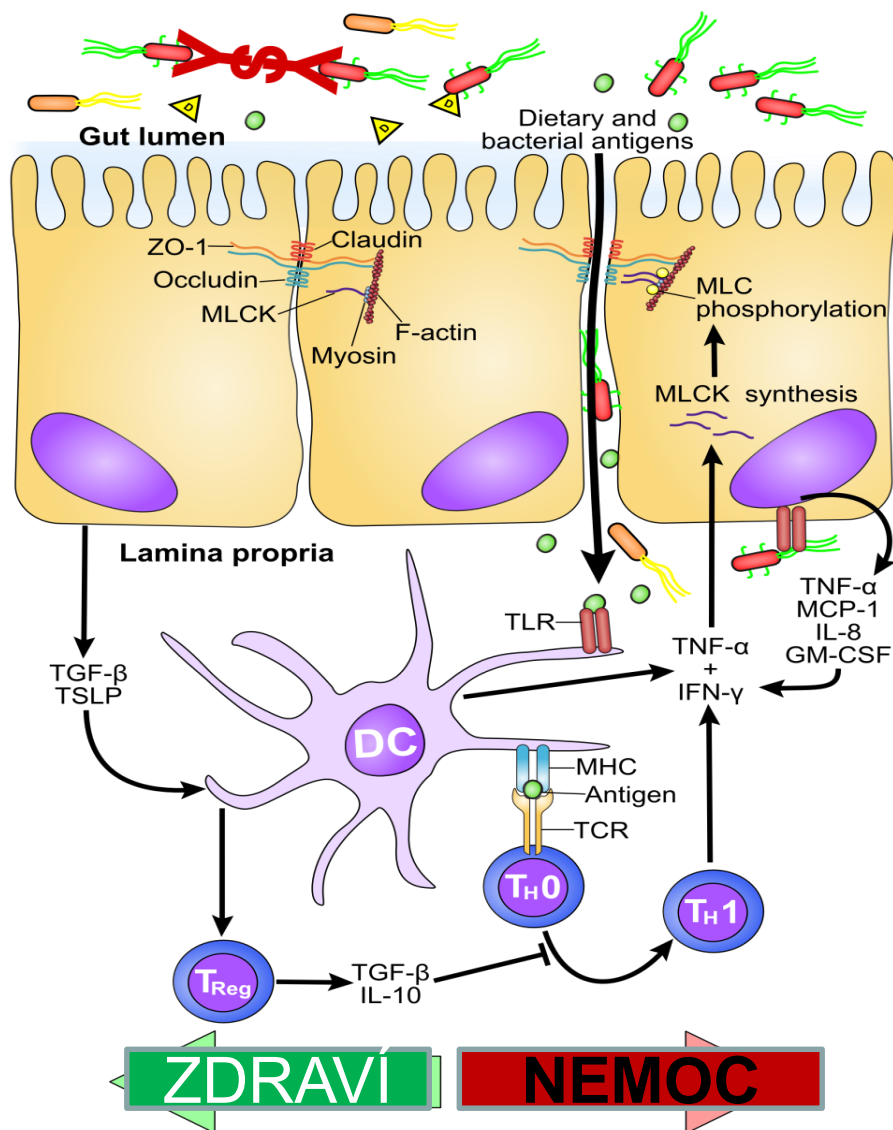
Složky střevní bariéry



Bariérová funkce střevní sliznice spolurozhoduje o zdraví nebo vývoji nemocí

Složky:

- mikrobiota
- hlen
- antimikrobní peptidy
- SlgA
- těsné spoje epitelu (TJ)
- slizniční imunitní systém



Porucha bariérové funkce („leaky gut“- „děravé střevo“) vede k přestupu mikrobiálních složek a k aktivaci imunity (zánět)

Střevo

Fyziologické funkce

Zpracování a vstřebávání živin a tekutin

Interakce s ostatními orgány

Kontakt s prostředím

Imunologické funkce

Střevo - největší imunologický orgán v organismu
(70% imunitních buněk)

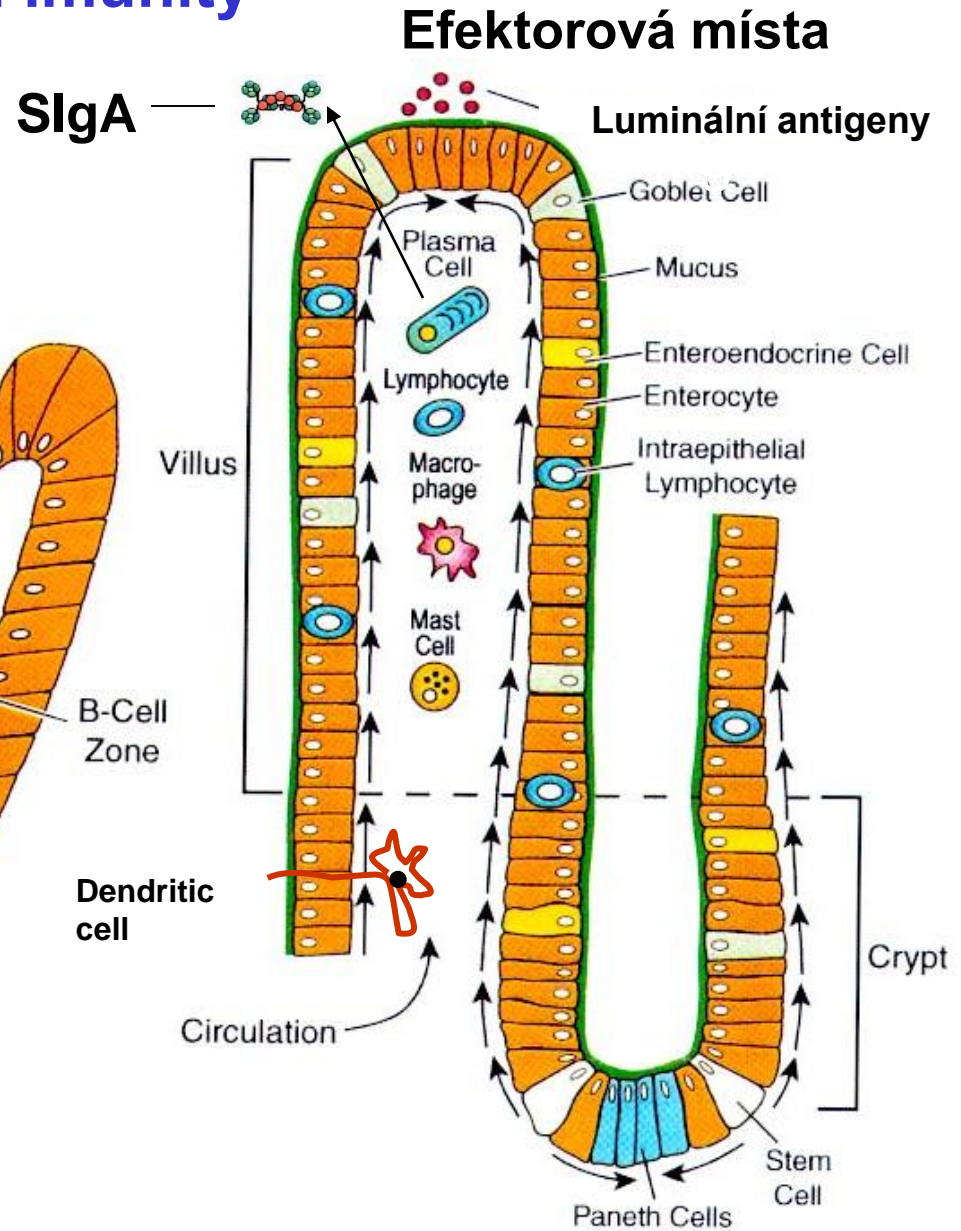
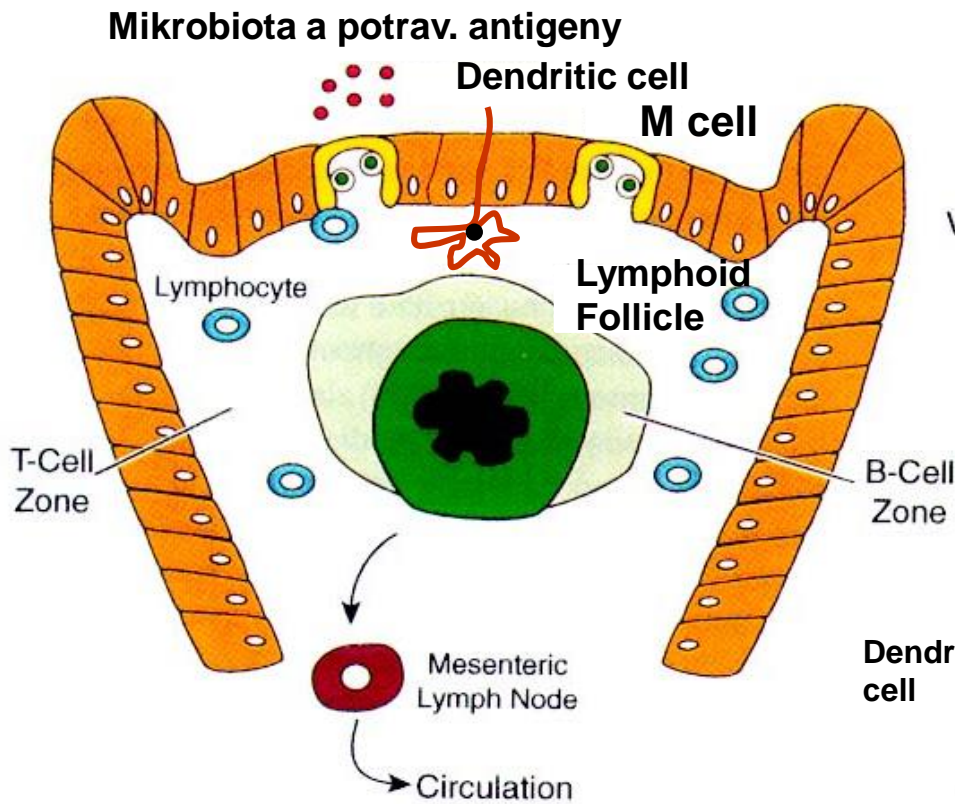
Bariérová funkce - nespec. a spec. faktory

Interakce imunitních buněk různých sliznic a exokrinních žláz (“společný imunitní slizniční systém”)

Zajištění systémové nereaktivnosti (“orální, slizniční tolerance”) na antigeny potravy a střevní mikrobioty

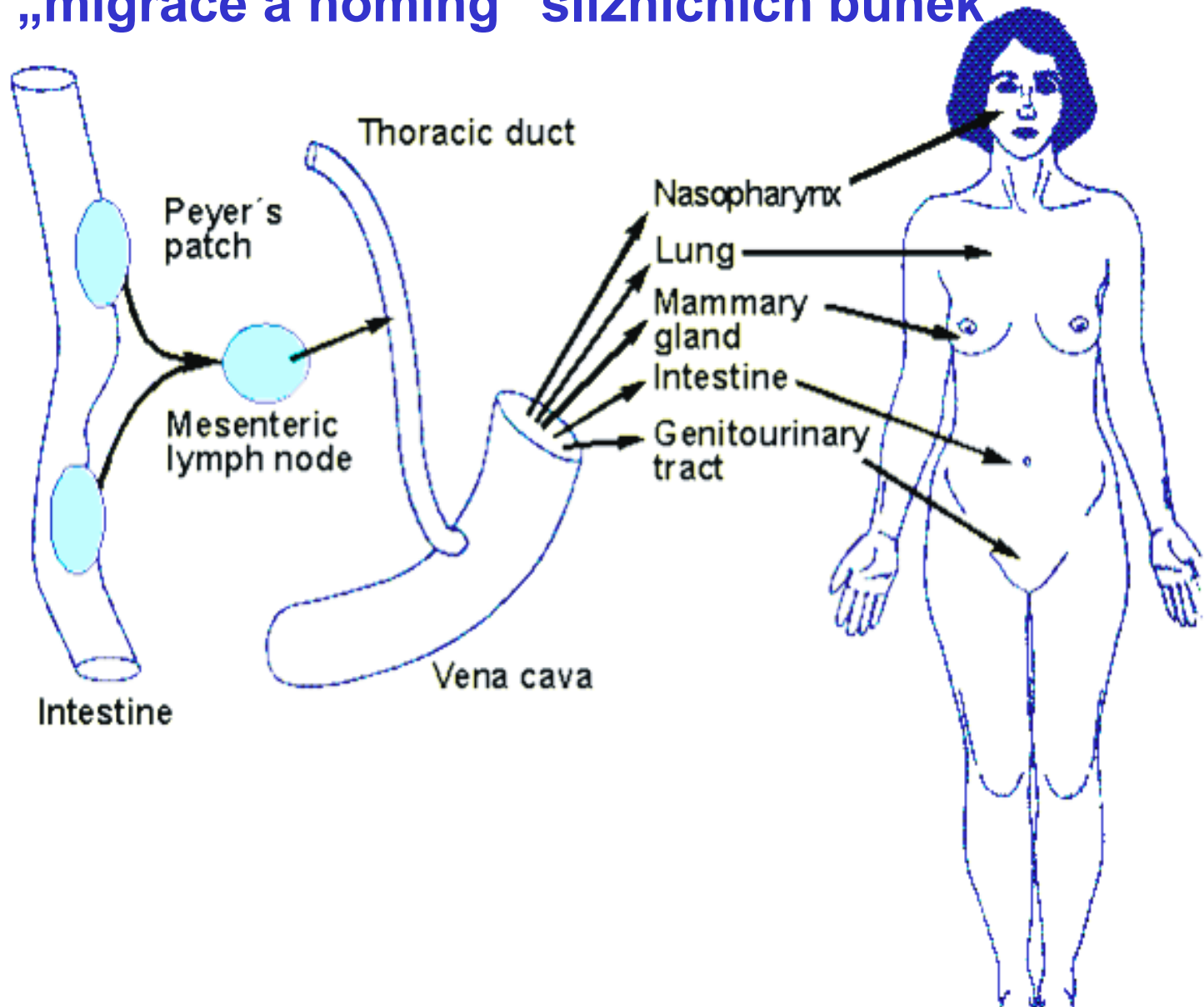
Střevní imunitní systém obsahuje složky vrozené a adaptivní imunity

Indukční místa (např. Peyerovy pláty)

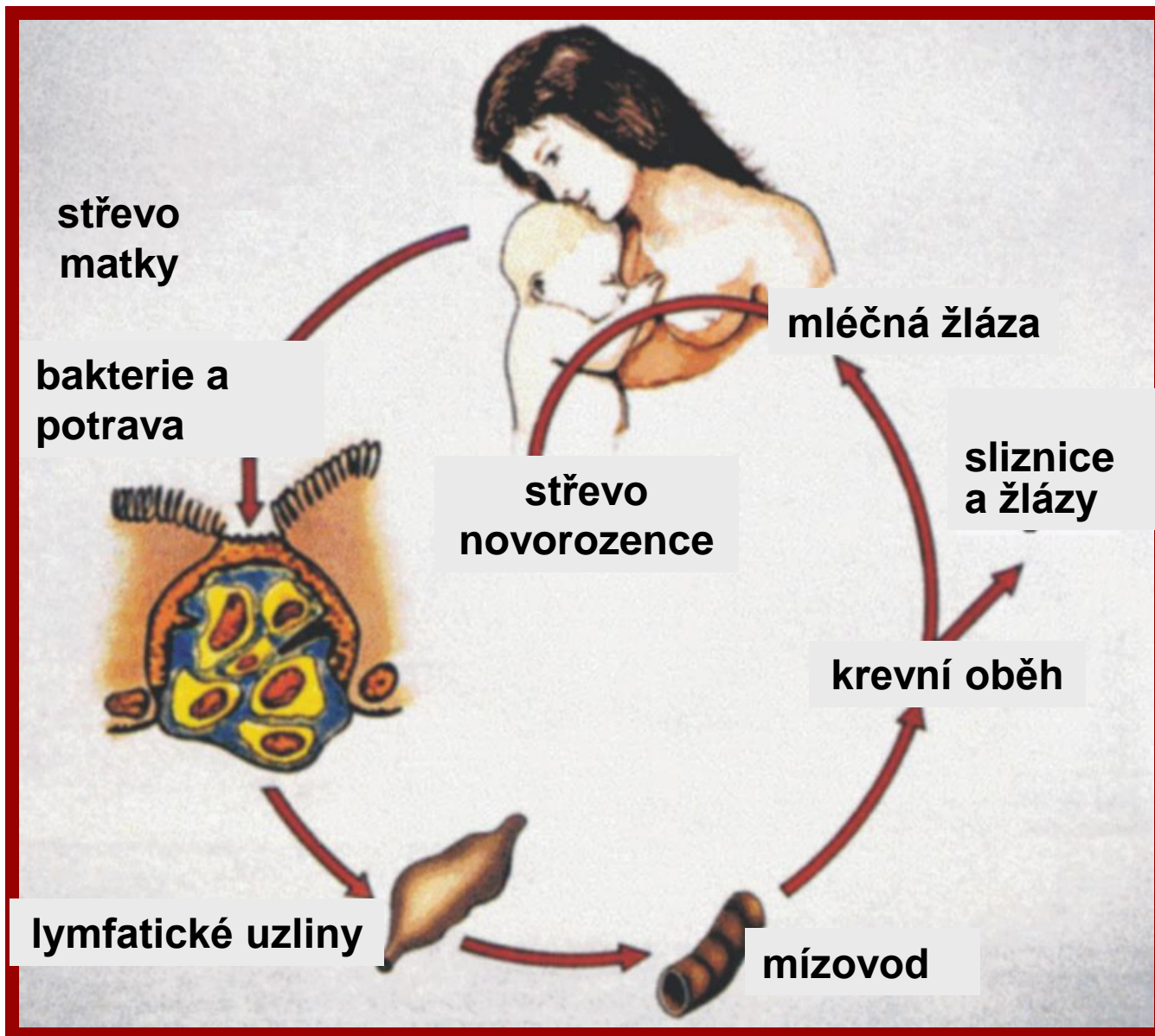


SPOLEČNÝ IMUNITNÍ SYSTÉM SLIZNIC

„migrace a homing“ slizničních buněk



Společný imunitní systém sliznic zajišťuje např. přísun imunitních buněk matky do mléčné žlázy



SLIZNIČNI TOLERANCE

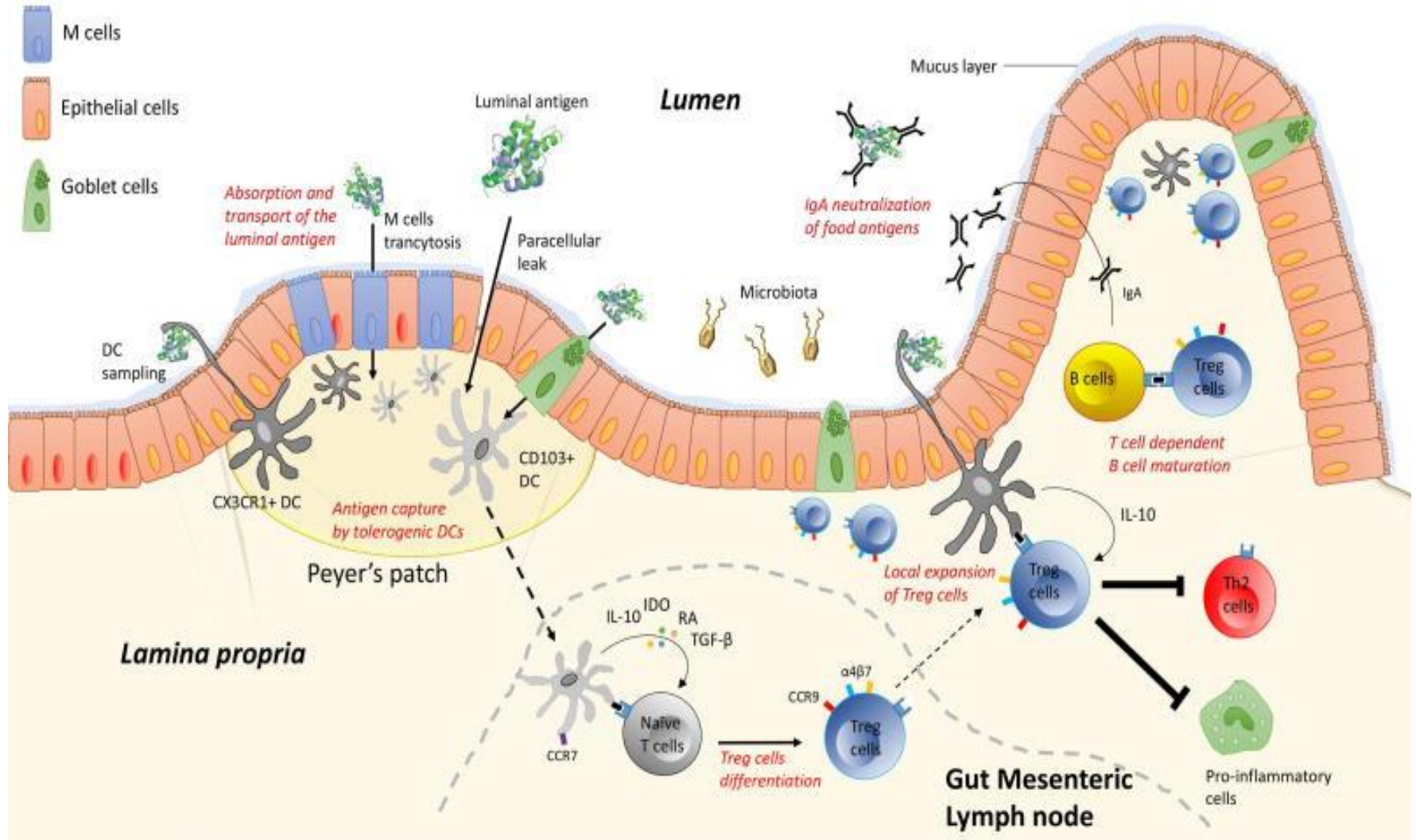
Slizniční povrchy jsou vystaveny velkému množství podnětů z vnějšího prostředí. Jsou to nejen kolonizující mikroorganismy, antigenní složky potravy a vzduchu, ale i polutanty a řada dalších složek z prostředí.

Slizniční imunitní systém má vyvinuté regulační mechanismy, které mají za cíl snížit nebezpečí zánětlivé odpovědi jak na sliznicích tak u systémové imunity inhibicí, která je výsledkem vrozených a adaptivních mechanismů.

Tyto mechanismy zajišťují tzv. orální, slizniční toleranci.

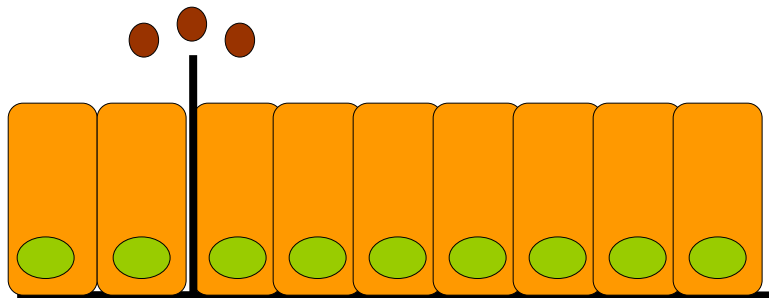
Předpokládaný mechanismus vývoje orální (slizniční) tolerance

Po transportu střevním epitelem jsou antigeny prezentovány dendritickými buňkami T regulačním buňkám



Orální (slizniční) tolerance a její poruchy

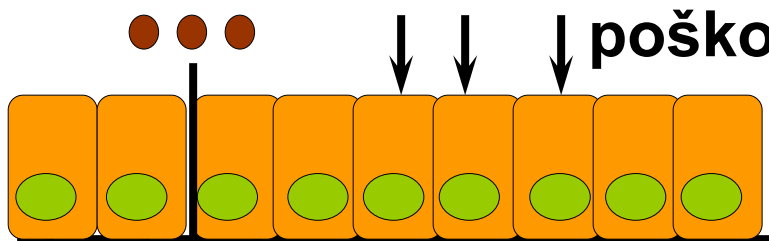
Indukce tolerance k antigenům potravy a mikrobioty



Útlum lokální a systémové imunitní reakce

TGF β T regulační b.
nezralá dendritická bb

Porucha orální tolerance



poškození slizniční bariéry (infekce)

Slizniční a systémová hyperreaktivita (zánět)

cytokiny
T efektorová b.
zralá dendritická buňka

Nemoc

Možnosti ovlivnění slizniční imunity

- **Modulace mikrobioty- mikrobiom je hlavním stimulem pro slizniční i systémovou imunitu**
životní styl, strava, probiotika, přenos stolice atd.
- **Imunomodulátory (imunostimulační a imunosupresivní léky)**
- **Vakcinace - stimulace specifické imunitní odpovědi**
slizniční vakcíny jsou problematické (vadí indukce orální, slizniční tolerance)
„edible vaccines“ – geneticky modifikované potraviny rostlinného původu obsahující vakcíny
vývoj slizničních vakcín proti SARS-CoV-2 (exp., nasální)

MIKROBI A LIDE

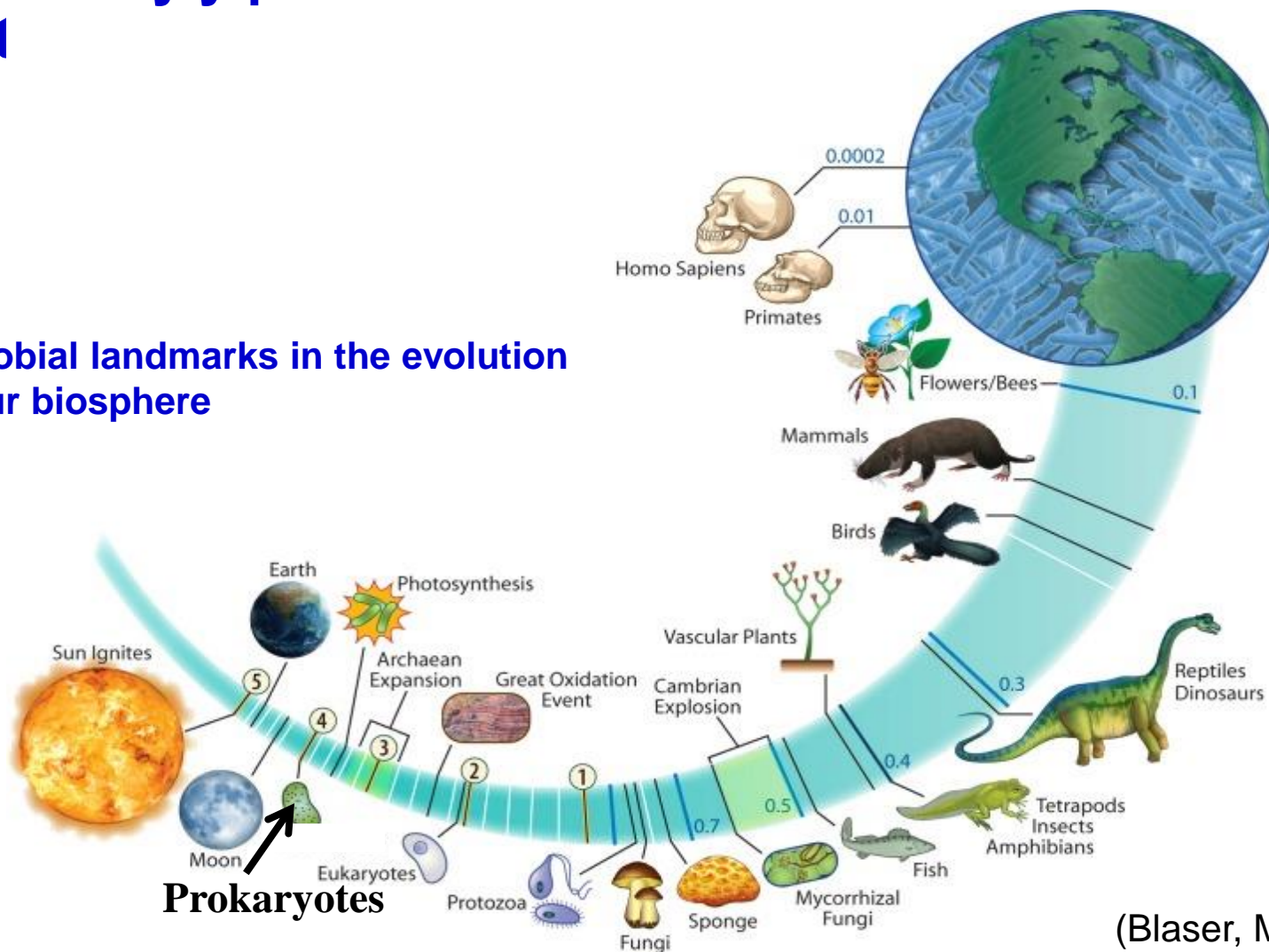
Žijeme ve světě mikrobů a ty nás ovlivňují mnohem více než se kdy předpokládalo.

Bakterie byly první formou života na Zemi.

Exist

ixii.

Microbial landmarks in the evolution of our biosphere



(Blaser, Mbio 2016)

Všechny epitelové povrchy našich sliznic jsou osídleny mikroorganismy, které obsahují nebo produkují řadu imunitu stimulujících složek.

Mikrobiom

Charakteristické mikrobiální společenství v ekologicky dobře definovaném prostředí

Mikrobiota

Společenství mikroorganismů patřící do různých říší – prokaryotické i eukaryotické. Obsahuje metabolity, mobilní genetické elementy, viry

Lidská střevní mikrobiota obsahuje:

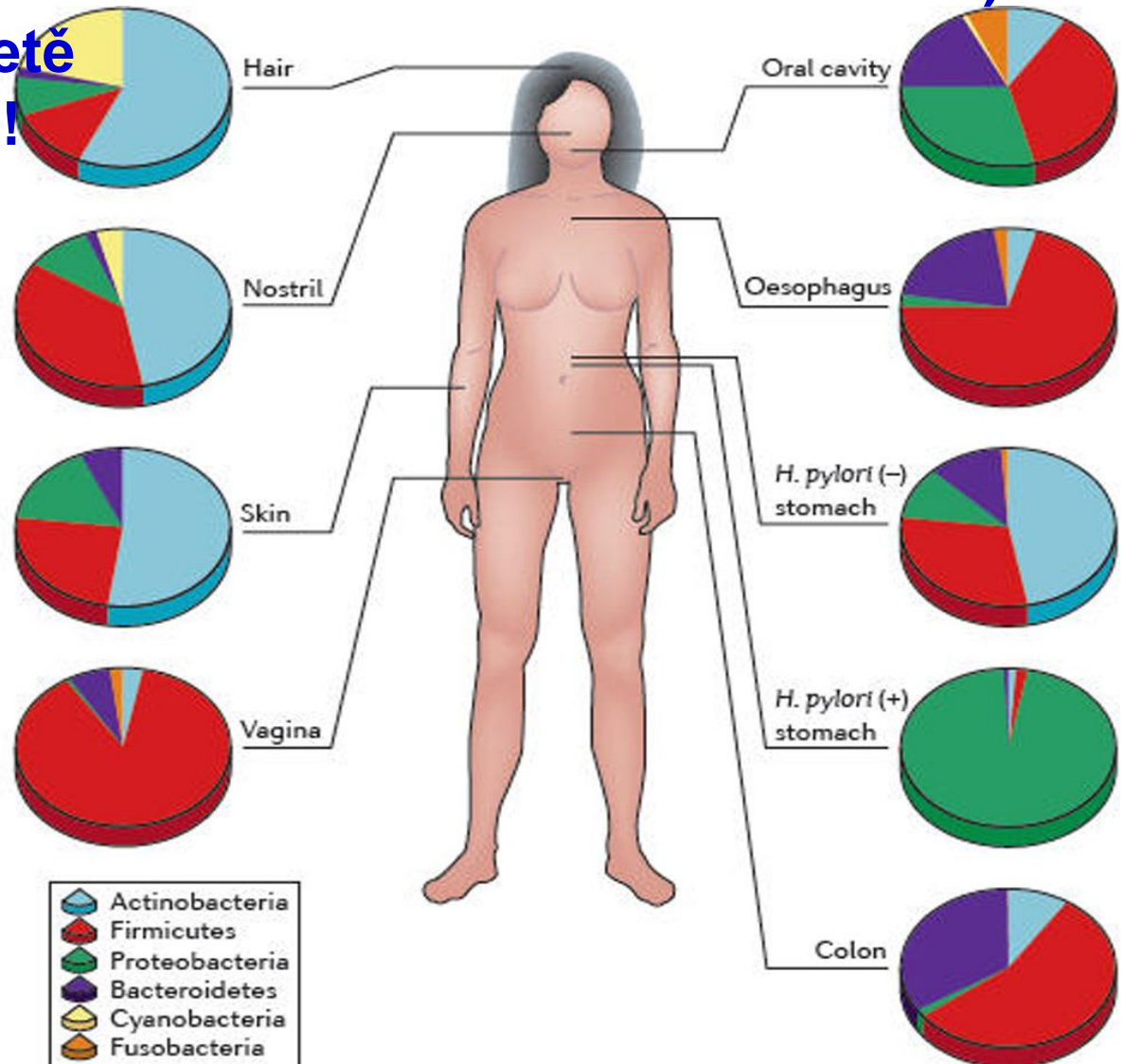
Bakterie - nejstarší (4 miliardy let) skupina živých organismů na planetě (10^{30}), v lidském střevě $\sim 10^{13}$ /g, houby (mykobiom - 10^6 /g). viry (virom), bakteriofágy (10^{15} g) a eukaryotické viry, archea (archeom), parazité

Lidský mikrobiom

HMP - Human Microbiome Project (USA, \$ 173 mil, NIH funded)

99 % bakterií na planetě je nekultivovatelných!

Mikrobiota osidluje všechny epitelové povrchy lidského těla

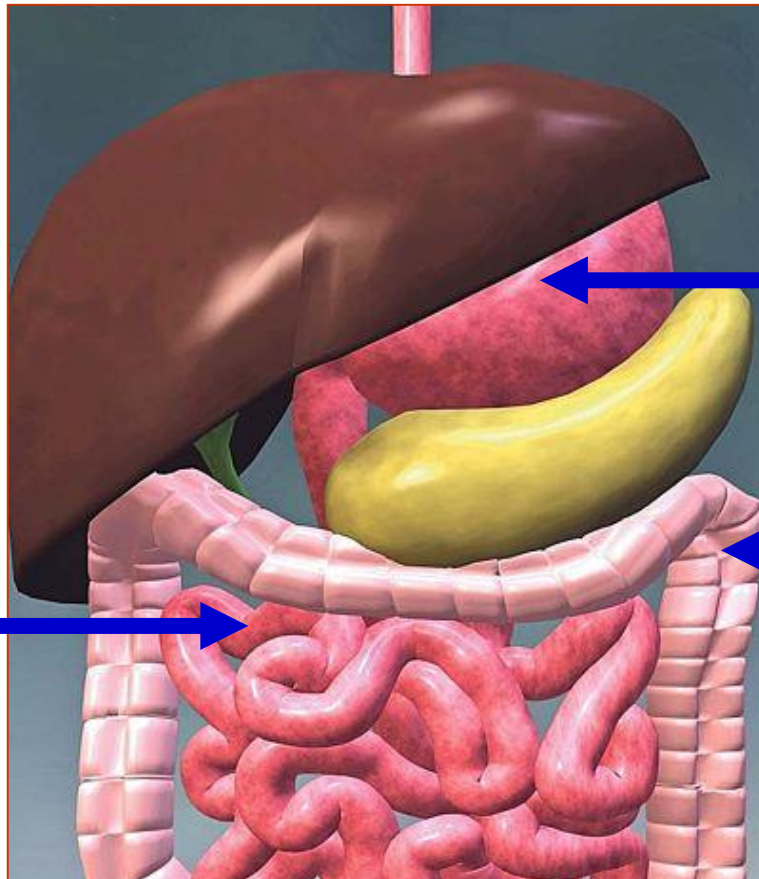


(Human Microbiome Project, Nature 2012)

Střevo

- obsahuje největší množství mikrobů
- má největší povrch (200m²)
- je největším imunitním orgánem (70% imunitních buněk organismu)
- po mozku největší rezervoár neuronů (srovnatelné s míchou)
- je centrálním orgánem zdraví

Tenké střevo
10³-10⁷
mikrobů/ml



Žaludek
10¹-10³
mikrobů/ml

Tlusté střevo
10¹²-10¹³
mikrobů/ml

Bakteriální společenství ve zdravém lidském střevě

Převahu (přibl. 90%) v lidské střevní mikrobiotě tvoří:

Firmicutes (Gram-positivní, striktně anaerobní např. Bacilli, Clostridia)

Bacteroidetes (Gram-negativní, striktně anaerobní např. Bacteroides fragilis, disastonis)

Minoritními složkami jsou:

Actinobacteria (Gram-positivní, striktně anaerobní např. Bifidobacteria)

Proteobacteria (Gram-negativní, fakultativně anaerobní, patogenní kmeny např. E. coli, Salmonella, Vibrio)

Prospěšné bakterie

Např. *Faecalibacterium prausnitzii* - produkce butyrátu (protizánětlivá aktivita), *Akkermansia*

Potenciálně patogenní („patobionti“)

Např. *Helicobacter pylori* - produkce toxinů, *E. coli* (enterovirulentní kmeny)

Střevní mikrobiom u zdravých dospělých

- Celkově kolem 10^{14} bakterií (+viry, plísně, parazité)
- Převaha nekultivovatelných mikrobů (~ 70%)
- Obrovská diversita - různorodost (500-1000 druhů)
- Velmi specifický pro každého jedince (individuální variabilita), kriminalistika
- Dominantní složky mikrobiomu („jádro“ 30-40%) jsou ve zdravém dospělém jedinci stabilní

Funkce střevní mikrobioty

Střevní mikrobiota hraje důležitou úlohu ve fyziol. vývoji, vliv na : metabolismus, imunitní i nervový systém

Prospěšné účinky

- **Štěpení polysacharidů enzymy, které chybějí v lidském organismu, produkce tělu prospěšných mastných kyselin s krátkým řetězcem, syntéza vitaminů K a B atd.**
- **Ochrana před patogeny, regulace imunity**

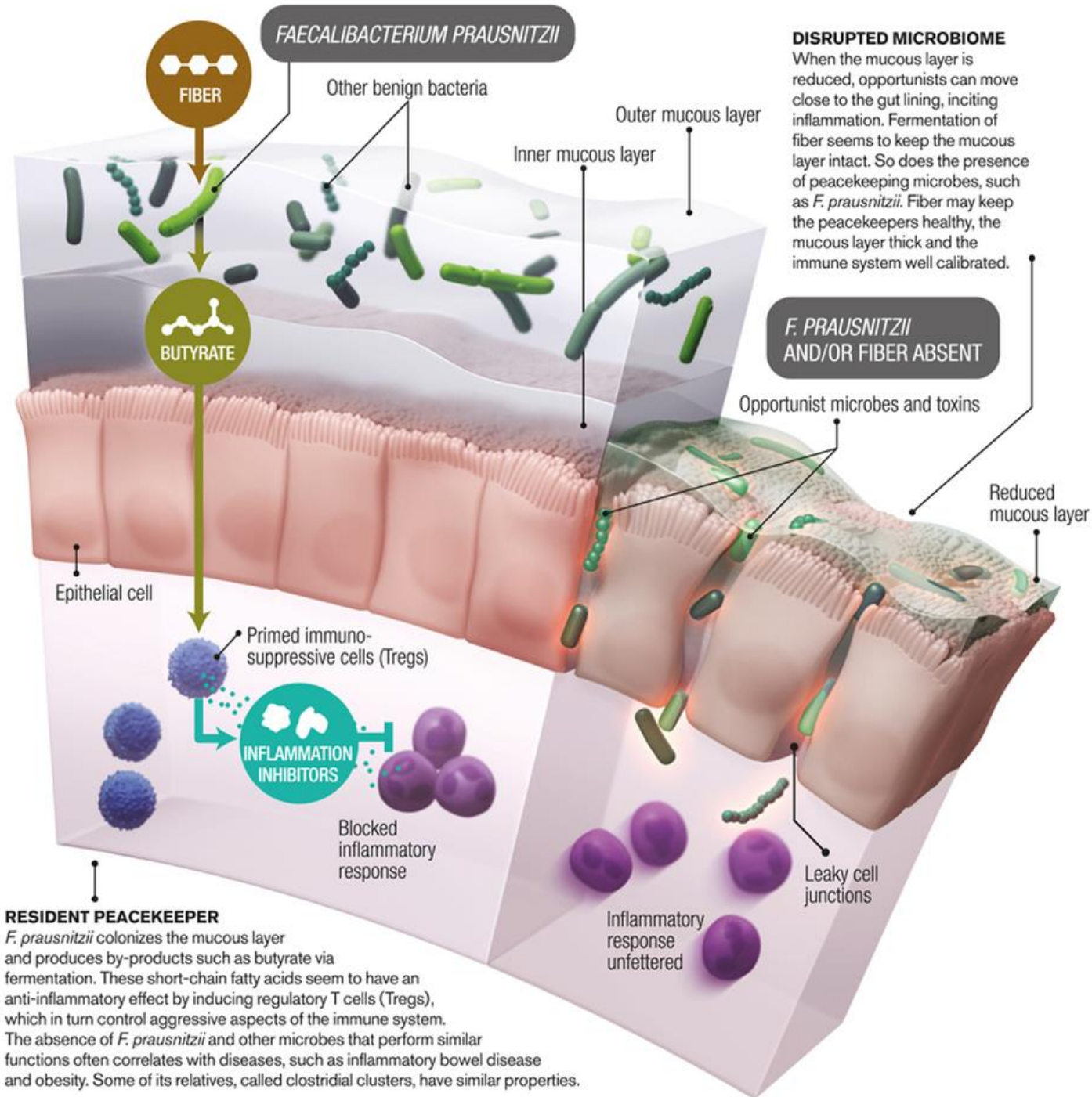
Faktory ovlivňující složení střevní mikrobioty

- **Životní prostředí (industrializace, urbanizace, průmyslové zpracování potravin)**
- **Charakteristika jednotlivce: genetika (rasa), věk, životní styl (pohyb, strava, spánek, stresy), hygiena, léky (antibiotika!)**

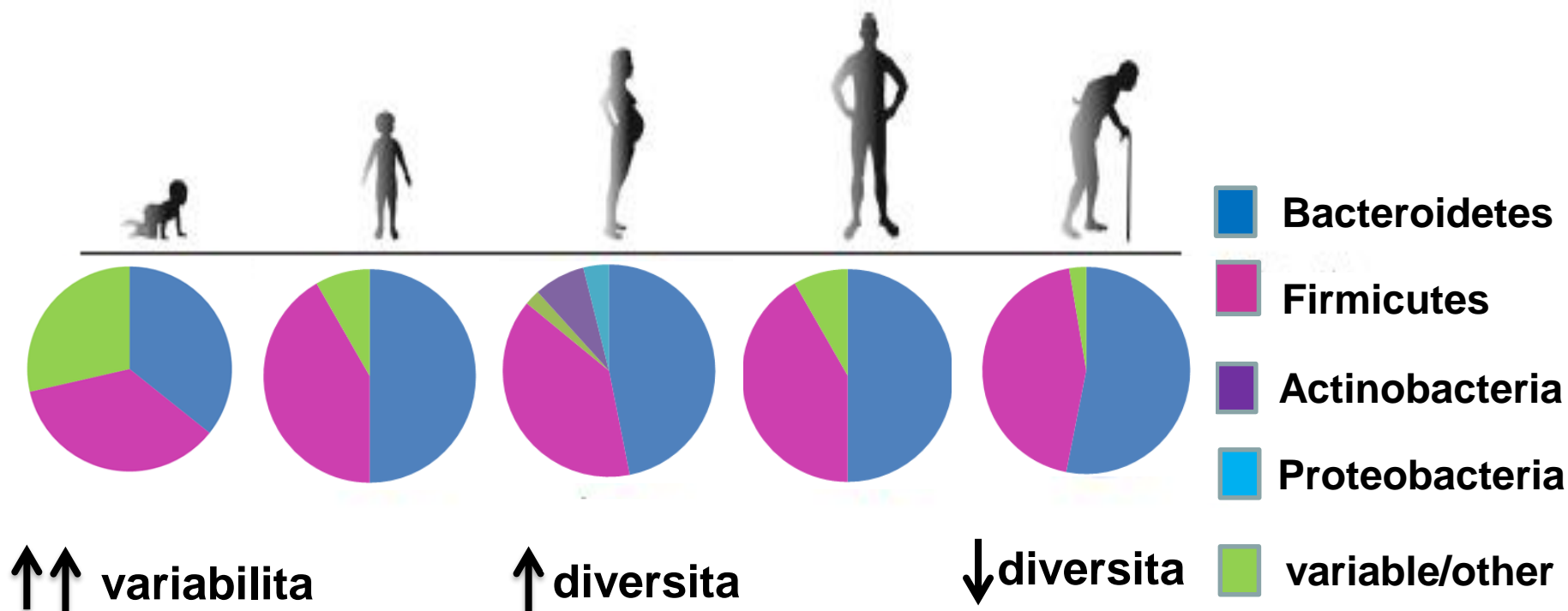
Strava je významným faktorem ovlivňujícím mikrobiotu. Bakterie fermentující vlákninu udržují zdraví.



(Nature 518, 2015)



Změny složení střevní mikrobioty během lidského života



(Kostic et al., 2013)

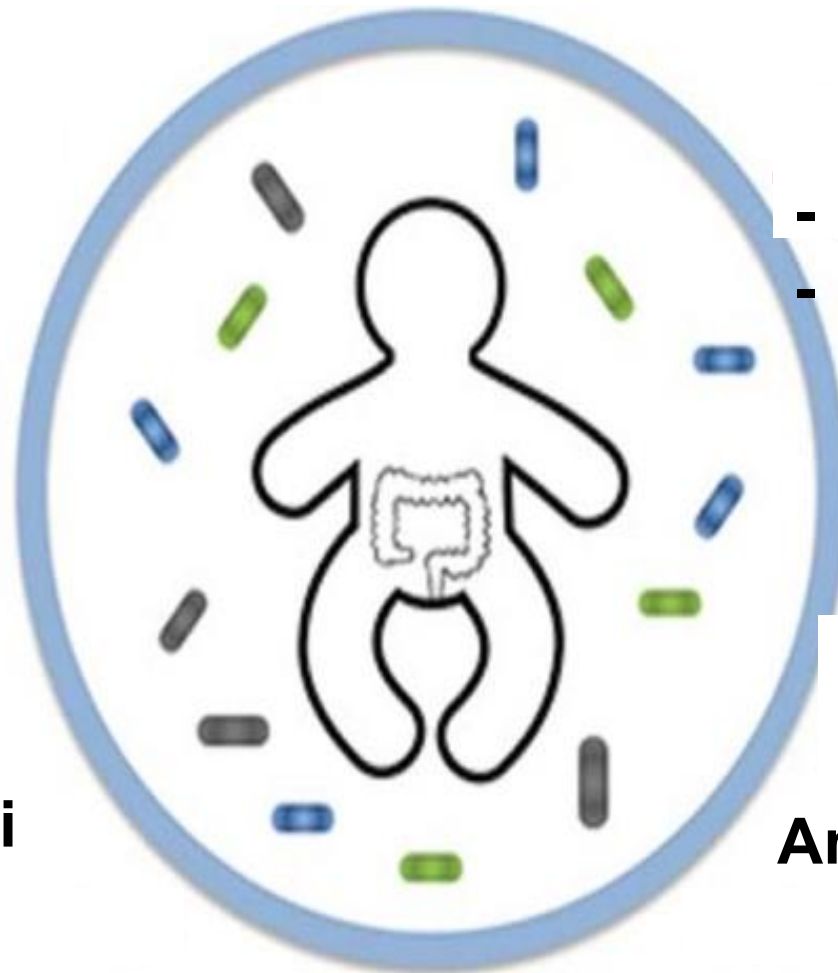
Nejdůležitějším obdobím pro zdravý vývoj imunitního systému a mikrobioty je období prenatální a časně období po porodu

Porod

- vaginální
- císařský řez

Výživa

- mateřské mléko
- umělá výživa



Nemoci

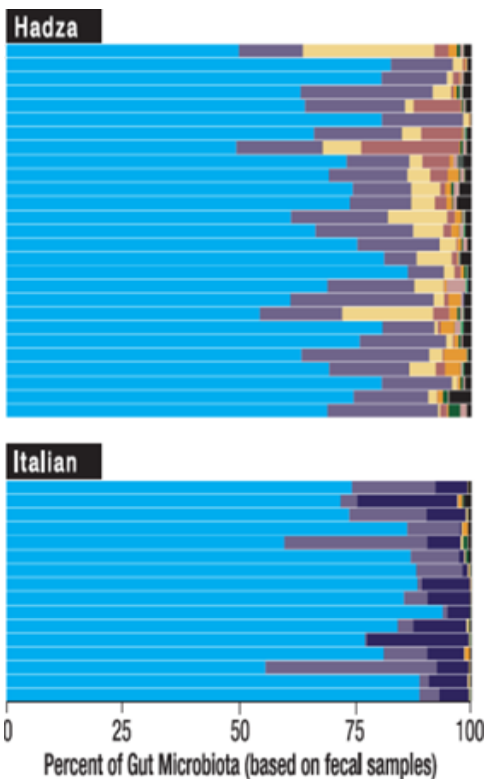
Antibiotika a léky

Hygiena a sociální prostředí

Moderní životní styl porušuje diversitu mikrobiomu

SAMPLES FROM AN "UNTOUCHED CIVILIZATION" SHOW DRAMATIC DIFFERENCES

Střevní mikrobiom původních kmenů z Tanzánie a Brazílie se vyznačuje ohromně velkou diversitou, která zaručuje stabilitu tohoto ekosystému, jeho funkční flexibilitu, která je schopná tolerovat stálou přítomnost patogenů a parazitů ve střevě a odpovídat na nečekané změny. Tento mikrobiom dovoluje trénovat imunitní systém k boji s nemocemi.



(de Vries, Science 2014)



Jakým způsobem stravování a životní styl ovlivňuje lidský mikrobiom, zdraví a vznik nemocí?

Pokles cen za sekvenaci nukleových kyselin a pokrok v bioinformatice dovoluje analýzu lidských mikrobiomů doplněnou dotazníkem o dietě, způsobu života, chorobách apod.)

Vznik dysbiozy – porušená rovnováha mikrobioty (snížená diversita, zvýšené počty pathobiontů)

Microbiome. 2021; 9: 66.

Published online 2021 Mar 22. doi: [10.1186/s40168-020-00996-6](https://doi.org/10.1186/s40168-020-00996-6)

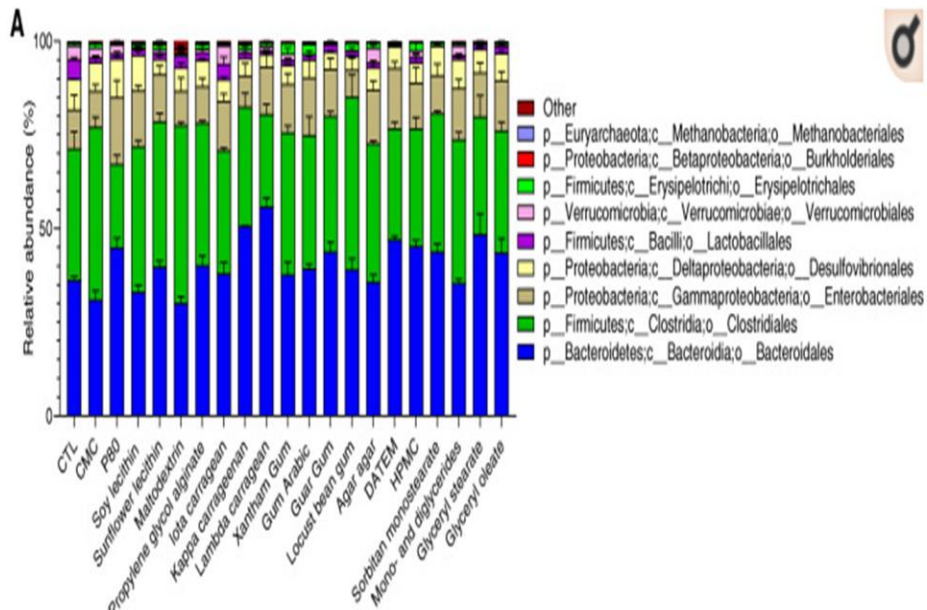
PMCID: PMC7986288

PMID: [33752754](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33752754/)

Direct impact of commonly used dietary emulsifiers on human gut microbiota

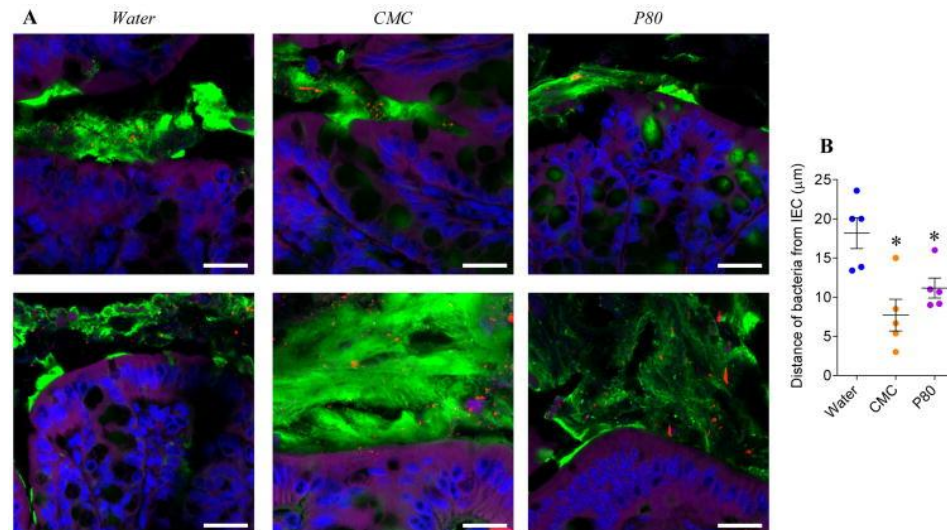
Sabrine Naimi,¹ Emilie Viennois,² Andrew T. Gewirtz,³ and Benoit Chassaing^{✉1}

Impact of dietary emulsifiers on microbiota composition at various taxonomic levels



(Naimi et al., Microbiome 2021)

CMC- and P80-treated suspensions promote microbiota encroachment when transplanted to germfree recipient mice



(Chassaing et al., Gut 2017)

Bifidobacteria presence (bacterial composition) of faecal microbiota in healthy adults

Belgium

Japan

Germany

Czech

republic China

France

Mexico

Scotland

Finland

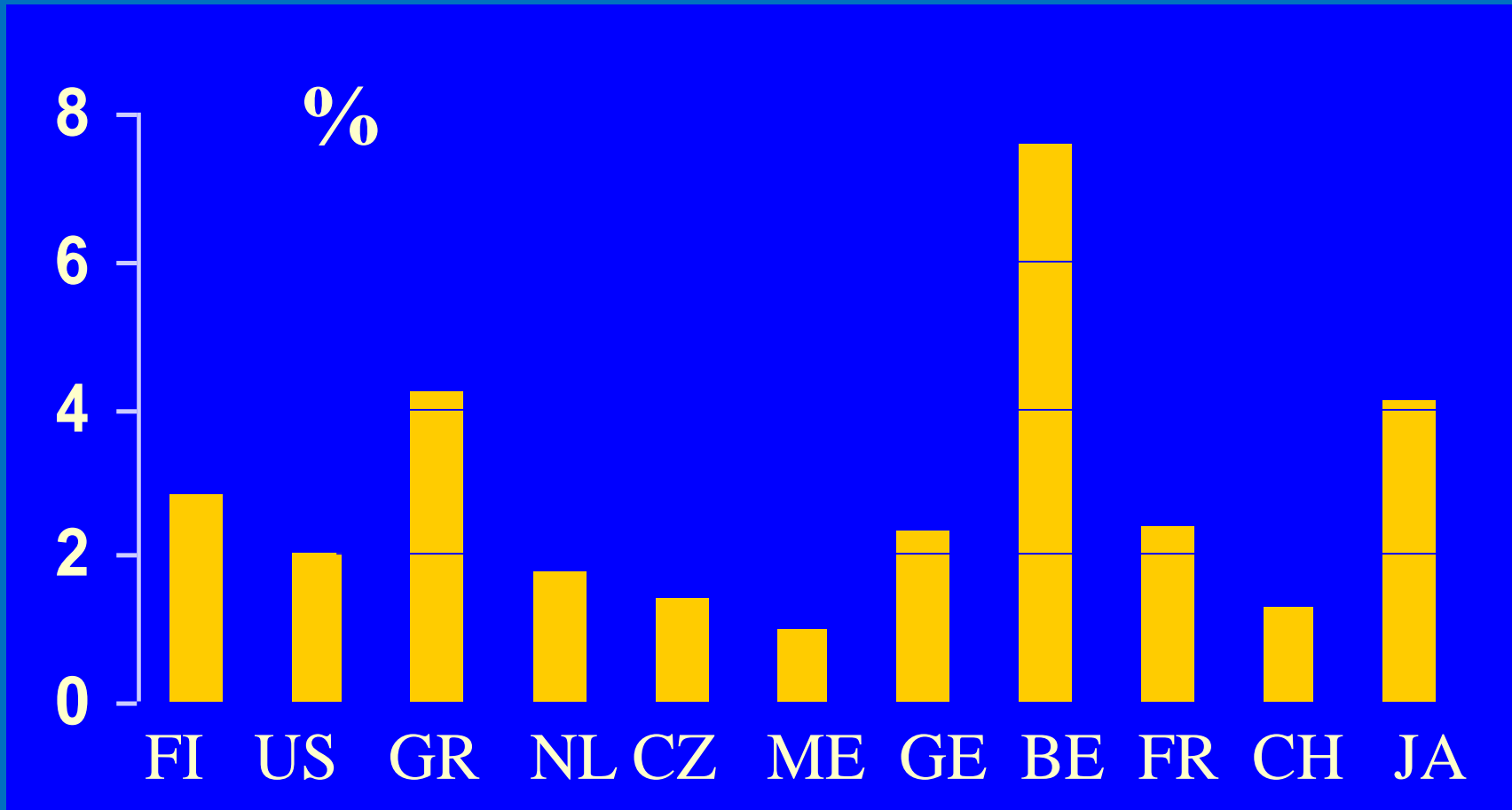
Greece

U.S.A.

Netherlands

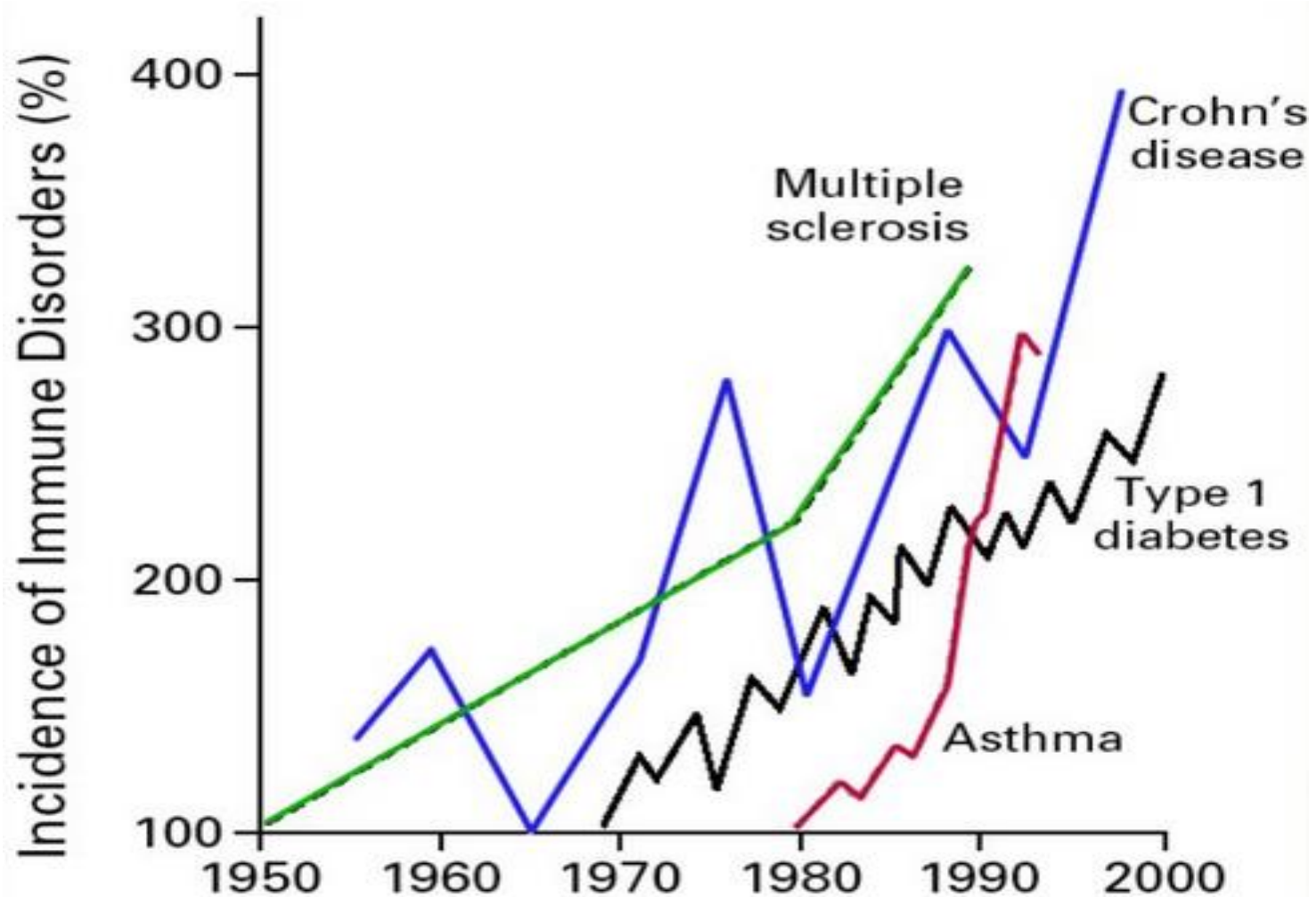


Percentage (median) bifidobacteria in faecal samples from healthy volunteers (18-55 yr) in different countries



(Welling et al, unpubl.)

Růst incidence komplexních, imunologicky mediovanych chorob v posledních dekádách je spojen s narůstajícím výskytem dysbiozy



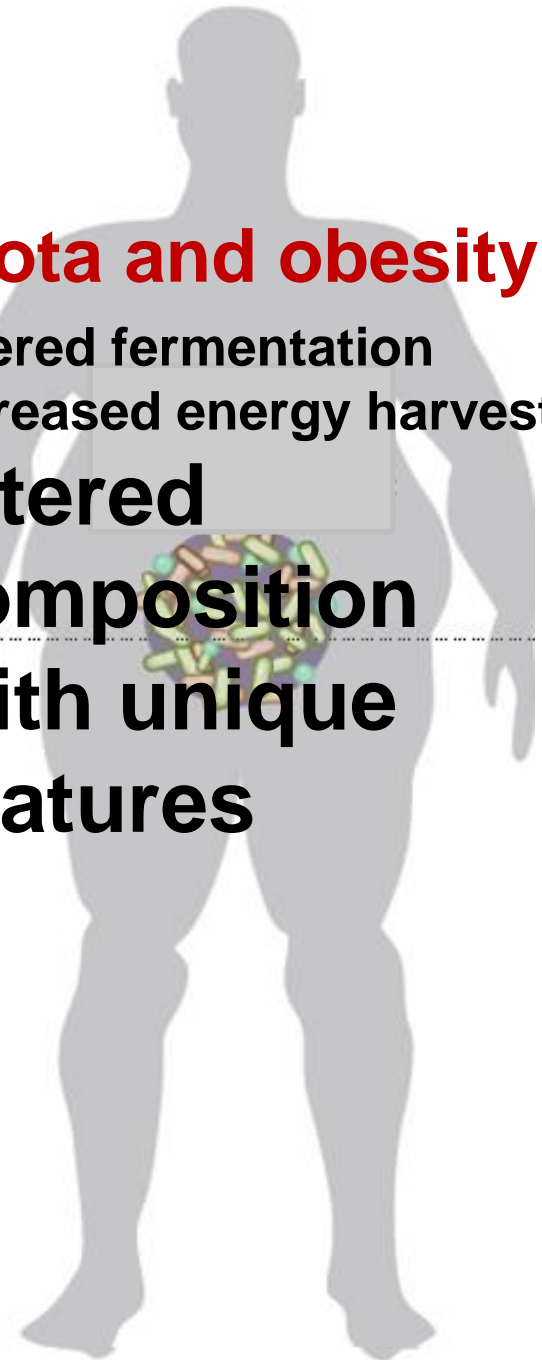
Mikrobiota a metabolismus

Gut microbiota and obesity

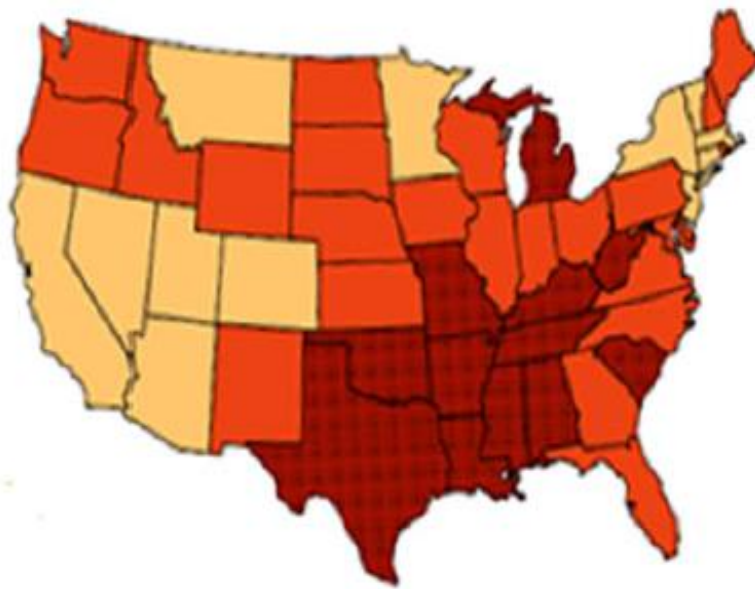
Komensální bakterie se kromě známých funkcí ve výživě účastní dějů rozhodujících o příjmu energie z potravy

Složení střevní mikrobioty ovlivňuje metabolické děje (obezita, inzulinová rezistence
- „low grade inflammation“)

- Altered fermentation
- Increased energy harvest
- **Altered composition with unique features**



Geographical distribution of obesity and antibiotic use in the United States



Obesity trends in US Adults, 2010

Source: CDC Behavioral Risk Factor Surveillance System.



Antibiotic prescriptions per 1000 persons, 2010

Source: L Hicks, TH Taylor, RJ Hunkler. NEJM 2013, 368:1461.

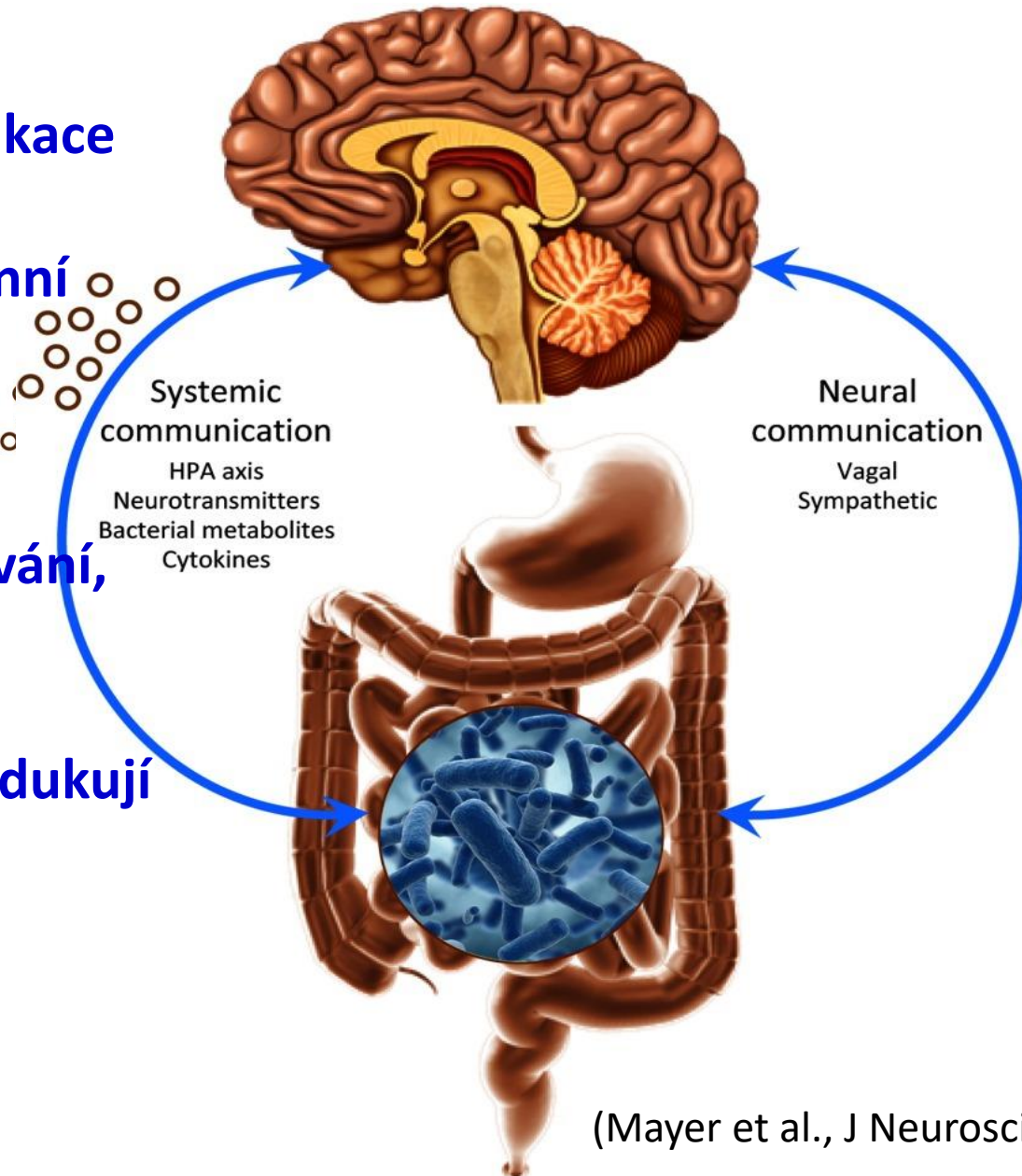
(Petschow et al., Ann. NY Acad Sci 2013)

Osa mikrobiom-střevo-mozek

Obousměrná komunikace

Endokrinní, neurokrinní a zánětlivé signály tvořené mikrobiotou a buňkami střeva ovlivňují mozek (chování, duševní projevy).

Některé bakterie produkují neuroaktivní látky (např. GABA)!



(Mayer et al., J Neuroscience 2014)

Mikrobiom a medicína

Lidský genom (dědičnost) nelze zatím výrazně ovlivnit

Lidský mikrobiom lze ovlivnit a tím působit na imunitní systém, metabolismus a nervový systém

Možnosti ovlivnění mikrobioty:

Strava (nezdravé složky- průmyslově zpracované potr.)

Antibiotika

Probiotika např. laktobacily, bifidobakterie a další

Probiotika příští generace (*Akkermansia*)

Psychobiotika – probiotika pro nervový systém

Prebiotika (např. fruktooligosacharidy, inulin)

Synbiotika (prebiotika a probiotika)

Lyzáty nebo separované složky bakterií

Rekombinantní bakterie

Zdraví prospěšné bakterie

- vláknina ve stravě (zelenina, luštěniny, ovoce) podporuje množení prospěšných bakterií
- přirozené zdroje prospěšných a probiotických bakterií v potravinách: kysané mléčné a rostlinné produkty
- probiotika - živé mikroorganismy aplikované orálně, působící blahodárně na zdraví
- nejčastěji užívaná probiotika: laktobacily, bifidobakterie, *E. coli*, enterokoky, kvasinky

Imunologické efekty probiotik se liší !!

- zlepšují funkci slizniční bariery
- působí proti zánětu (prevence i terapie)
- regulují imunitu
- upravují mikrobiální prostředí ve střevě
- zabraňují kolonizaci a ulpívání patogenů

Úloha mikrobioty ve vývoji imunitního systému a v patogeneze lidských chorob (experimentální využití bezmikrobních zvířat)

Pacienti přicházejí až s projevy choroby, nedá se zjistit, co vzniku choroby předchází.

Využití gnotobiotických modelů (bezmikrobních zvířat) ukázalo, že mikrobiota ovlivňuje lokální i systémové imunitní reakce.

Na gnotobiotických modelech lidských nemocí bylo prokázáno, že střevní mikrobiota hraje rozhodující roli při vzniku chorob: např. Crohnova choroba, roztroušená skleróza, diabetes 1. typu, metabolický syndrom (obezita), kolorektální karcinom, alergie

Gnotobiologie - chov bezmikrobních zvířat nebo zvířat s definovanými kmeny bakterií. „Sterilní porod“, sterilizovaná potrava a voda. Využití studium efektů mikrobioty na imunitu a vznik chorob.



Chov bezmikrobních myší v plastických izolátorech v Gnotobiologické laboratoři v Novém Hrádku. Laboratoř byla založena prof. J. Šterzlem na začátku 60. let (ing. Mandel, ing. Trávníček).

Gnotobiologická laboratoř Mikrobiologického ústavu AV ČR v Novém Hrádku založena na začátku 60. let prof. MUDr. J. Šterzlem, DrSc.

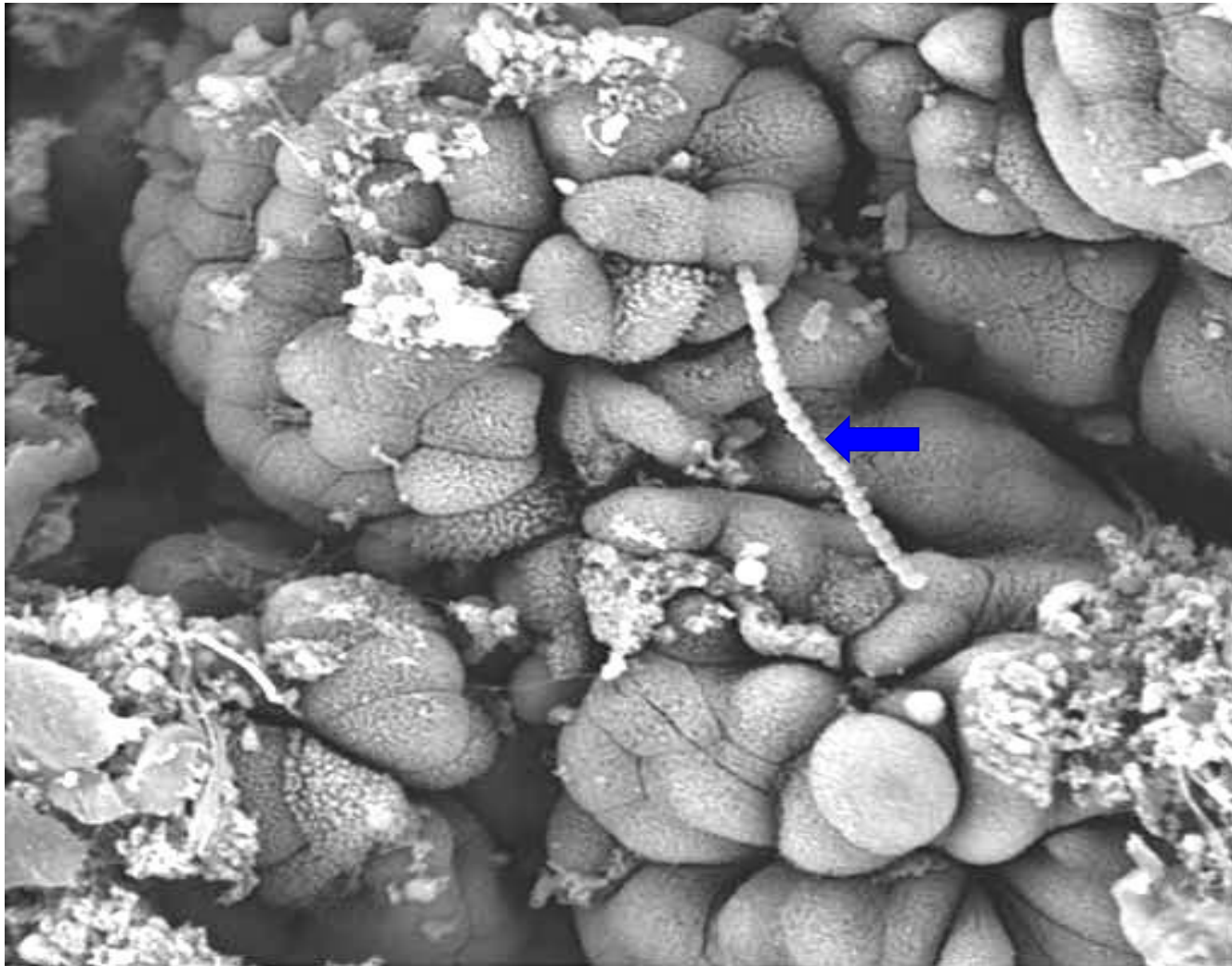
Jaroslav Šterzl (1925-2012)



Leoš Mandel (1930-1999), Jiří Trávníček,
Renata Štěpánková, Hana Kozáková,
Igor Šplíchal, Marek Šinkora, Martin
Schwarzer, Tomáš Hrnčíř

**Odchov a využití bezmikrobních prasat,
potkanů, králíků a myší.**

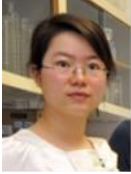
Scanning electron microscopy of segmented filamentous bacteria (SFB) participating in development of intestinal inflammation



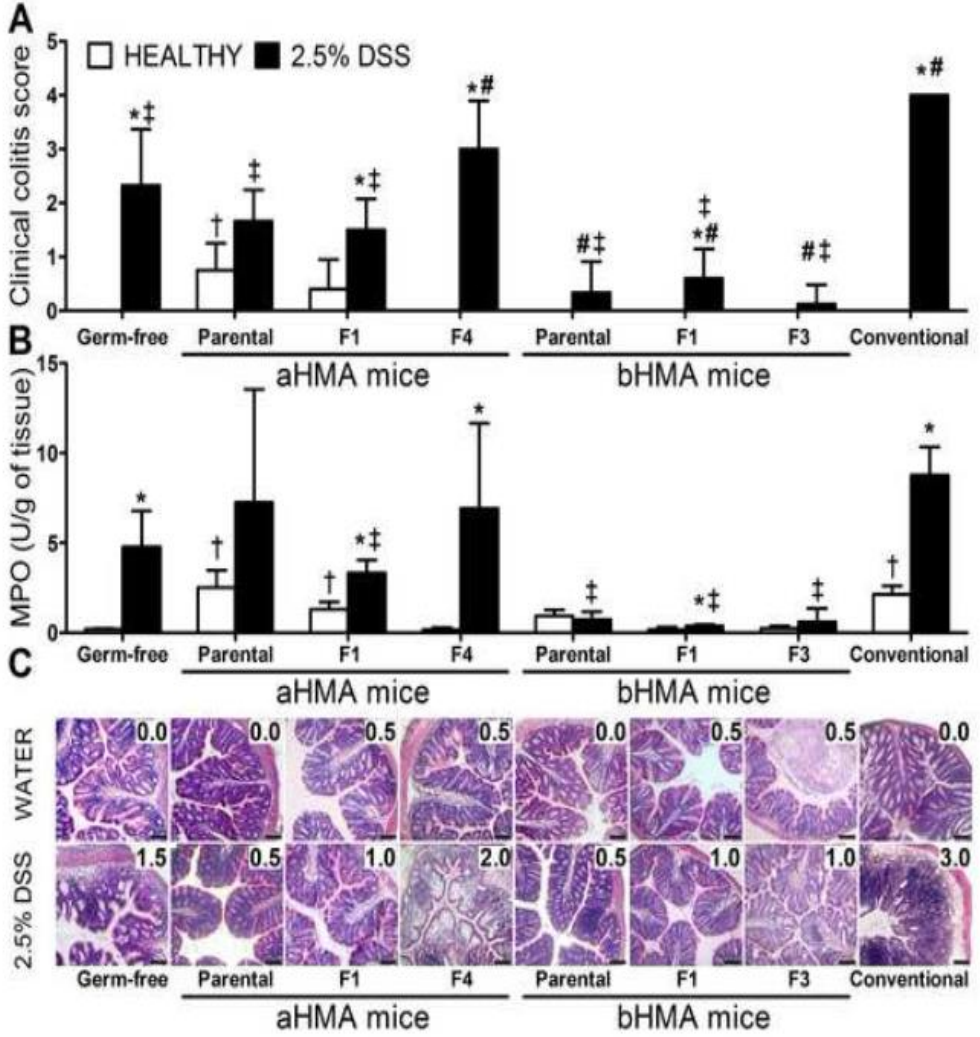
SFB

(Štěpánková, Powrie, Kofronova, Kozakova, Hudcovic, Hrcir, Uhlig, Read, Rehakova, Benada, Heczko, Strus, Bland, Tlaskalova-Hogenova, IBD, 2007)

Transfer of mucosa associated bacteria from gut biopsy of patients with ulcerative colitis into germ-free mice („humanized mice“)



Macro- and microscopic evaluation of DSS induced colitis

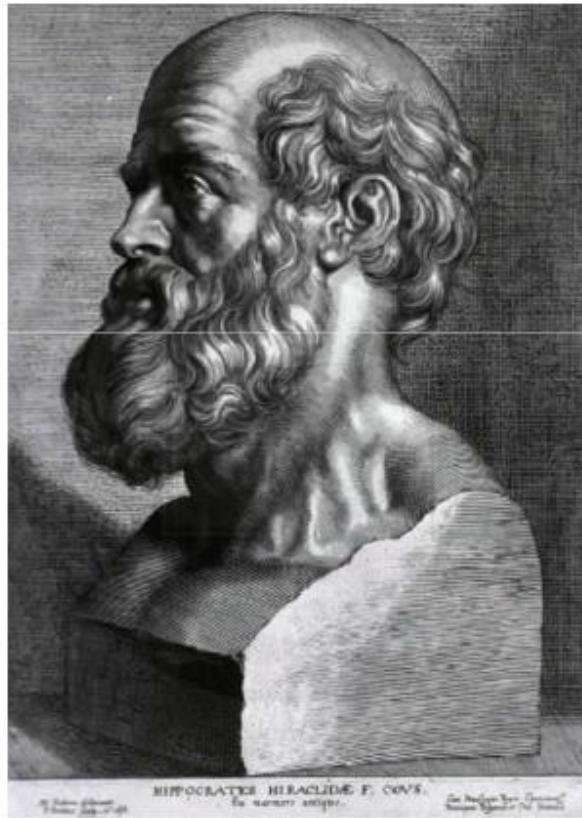


(Zhengyu Du, Hudcovic et al., Gut Pathogens 2016)

Závěry

- **Slizniční imunitní systém zajišťuje nereaktivnost na antigeny potravy a mikrobioty („orální - slizniční tolerance“) a komunikaci mezi imunitním systémem různých sliznic a exokrinních žláz**
- **Porucha slizniční tolerance vede k vývoji nemocí: potravinových alergií, celiakie, střevních zánětů a dalších chorob.**
- **Složení a funkce mikrobioty výrazně ovlivňují fyziologické funkce organismu a jejich porucha („dysbiosis“) se účastní v patogeneze chronických chorob.**
- **Změny životního stylu (industrializace, změna ve zpracování potravin a složení stravy, antibiotika, stres a další faktory) snižují diversitu mikrobioty.**
- **Snahy ovlivňovat mikrobiotu naznačují možnost využití při prevenci a terapii lidských chorob (personalizace!).**
- **Jsme teprve na počátku poznávání fascinujícího soužití makro- a mikroorganismů.**

**„Všechny nemoci začínají ve střevě“
„Necht' strava je tvojí medicínou!“**



Hippocrates, 460-377 před Kristem

***Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic,
Prague and Nový Hrádek, Czech Republic***



PODĚKOVÁNÍ

**Kverka M.
Jirásková-Zákostelská Z.
Klimešová K.
Štěpánková R.
Kozáková H.
Hrnčíř T.
Hudcovic T.
Rossmann P.**

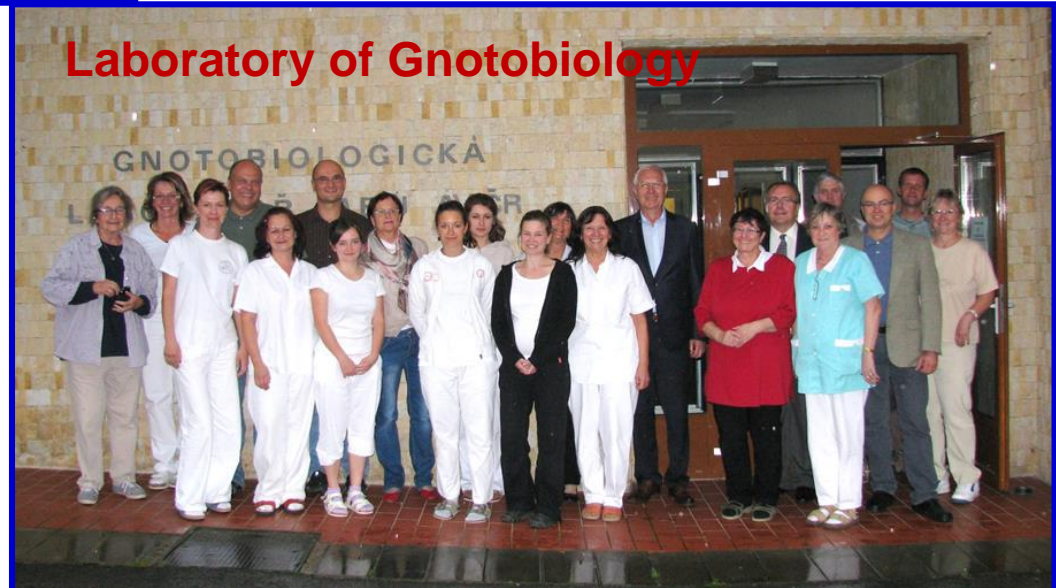


**Laboratory of Cellular
and Molecular Immunology**



Akademie věd
České republiky

Laboratory of Gnotobiology



Graphic Design: Veronika Patrovská