

STŘEVNÍ MIKROBIOM - AKTUÁLNÍ POZNATKY

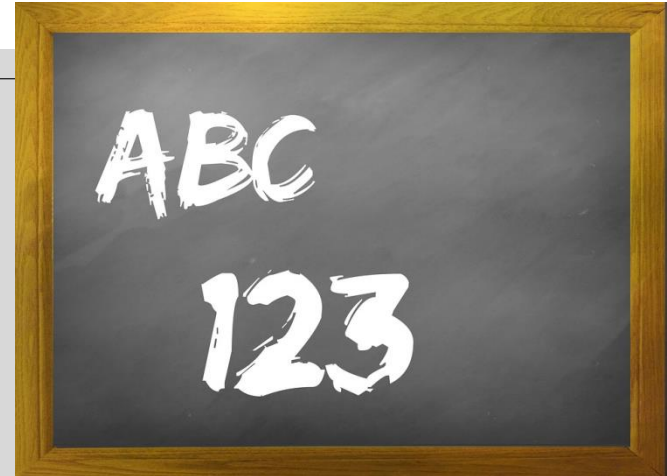
Pavel KOHOUT, Jiří VEJMEĽKA
Interní klinika
3.LFUK a FTN PRaha



Fórum zdravé výživy

1

- **analýza mikrobiomu a lidské zdraví**



2

- **fekální mikrobiom - diagnostický nástroj?**

3

- **klinické aspekty**



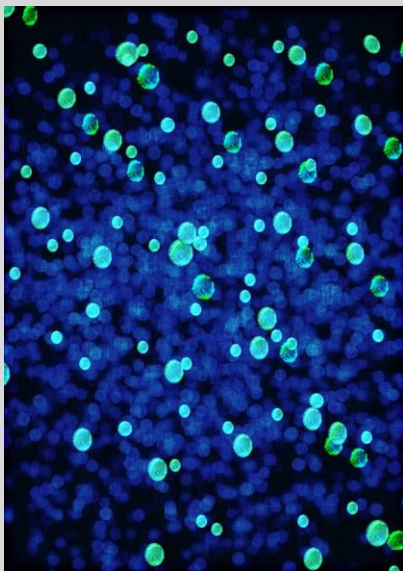
HOLOBIONT



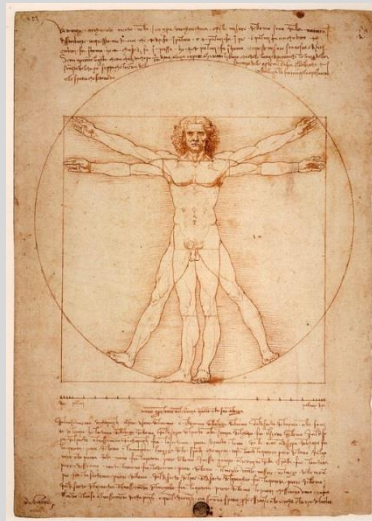
HOLISTICKÝ
PŘÍSTUP

Střevní mikrobiota

- komplexní ekosystém mikroorganismů
- bakterie + Archea, viry, Fungi, protozoa
- 5 kmenů, 160 druhů?
- Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria a Bacteroidetes

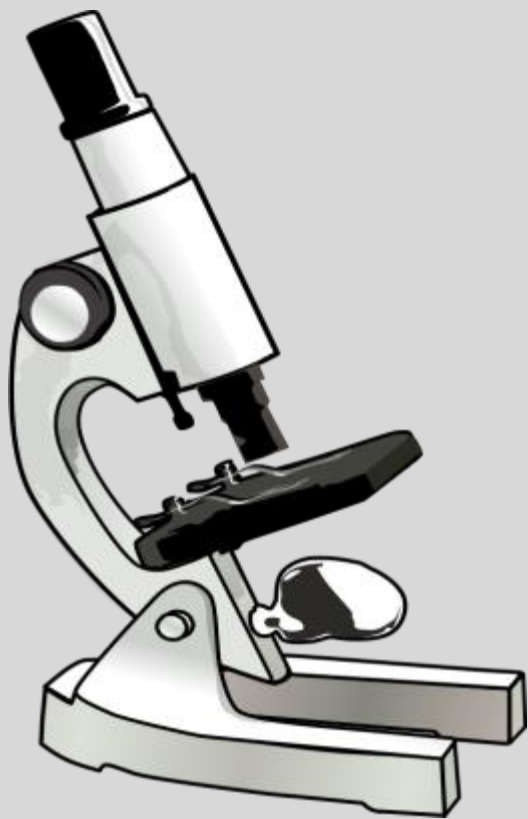


1,3 : 1

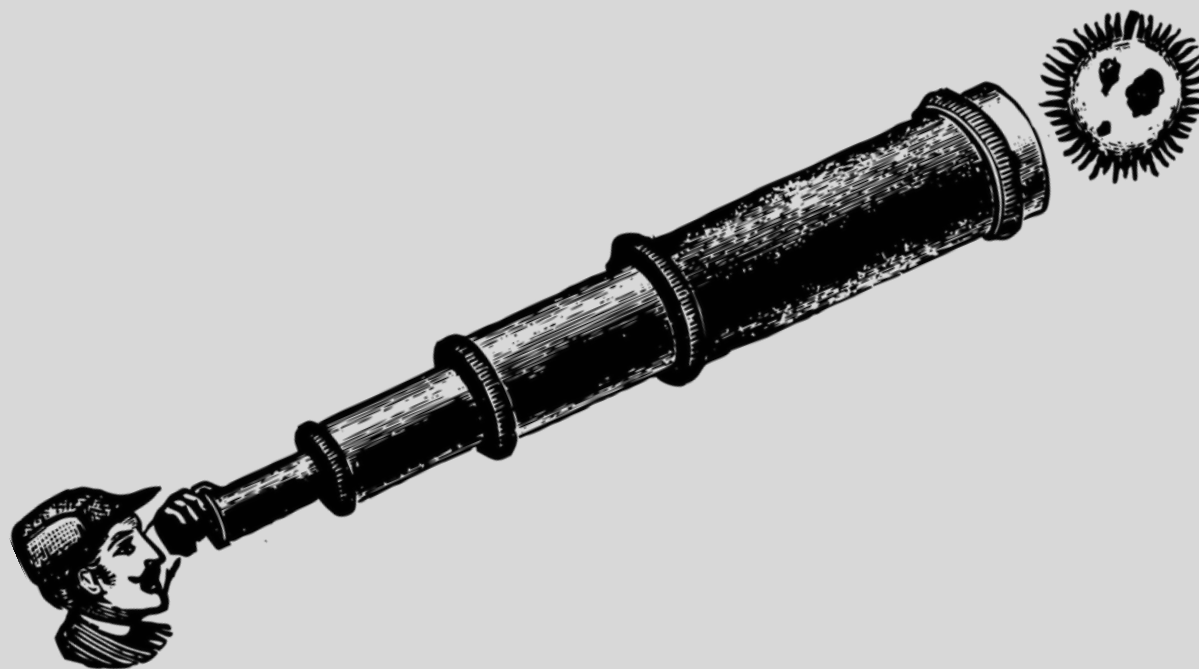


3,3 milionu genů (150 x více než lidský genom)

Firmicutes	60 %
Bacteroidetes	20 %
Actinobacteria	10 %
Proteobacteria	1 %



TRAČNÍK: 3.8×10^{13} bakterií



**MLÉČNÁ DRÁHA: $2 - 3 \times 10^{11}$
hvězd**

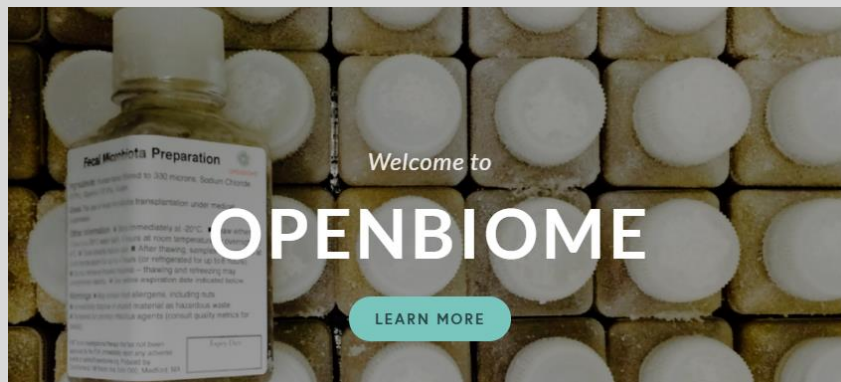


<https://www.hmpdacc.org/hmp/> 2007, 2014

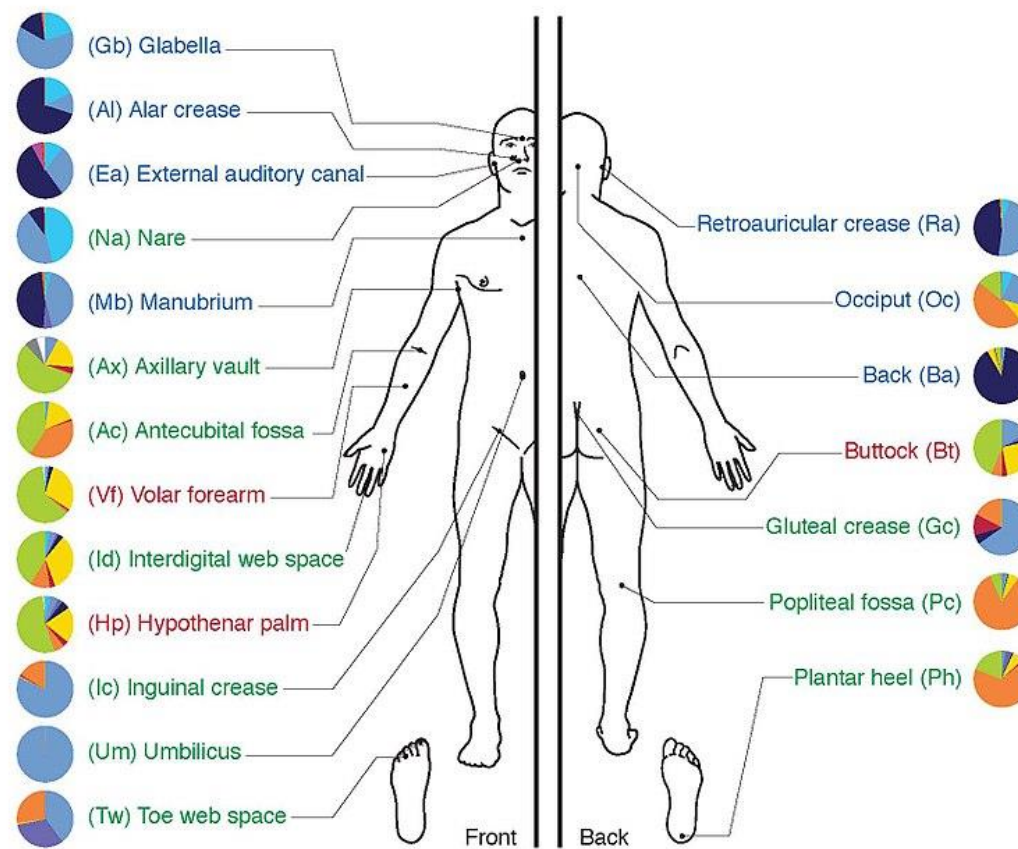
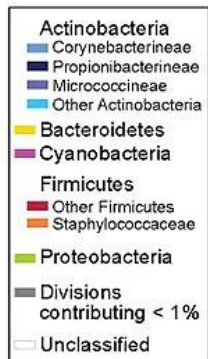


2011
<https://cordis.europa.eu/project/id/201052/reporting>

<http://americangut.org/> 2012



<https://www.openbiome.org/>
HGP 2003, „complete genome až 5/2021





Vývoj mikrobiomu



- formování již na počátku života
 - porod vaginálně vs. SC
 - kojení vs. mléčné formule
- ovlivněn řadou dalších faktorů:
 - HLA vs. non - HLA loci
 - věk
 - dieta
 - geografický výskyt
 - léky a další zevní faktory
 - stres, kritické stavy...

Změny v průběhu života

- střevní mikrobiom se utváří již intrauterinně
- smolka zdravých novorozenců: Escherichia - Shigella, Enterococcus, Leuconostoc, Lactococcus a Streptococcus
- typ porodu (vaginální, císařský řez)
- mateřské mléko, umělé mléko, příkrmy
- **do 3 let stabilizace**
- v průběhu života relativně stabilní
- změny kolem 75 - 85 let - vyšší zastoupení kmene Bacteroidetes, klesá druhová rozmanitost





HOLOBIONT

člověk + mikrobiota

porod per
vias naturales

kojení

pre/pro/syn/postbiotika

pohyb

pozitivní přístup k životu

úzký vztah k přírodě,
expozice antigenům

porod per SC

chronická onemocnění

umělá mléčná
výživa

xenobiotika

antibiotika

stres
absence pohybu

vysoce průmyslově
zpracovaná strava

abusus alkoholu, nikotinu...



bakterioterapie?
fágová terapie?
léčba parazity?
predátorské bakterie?
restrikční diety?

Probiotický koncept

Genesis, 18.8 : Abraham vděčil za svou dlouhověkost kyselému mléku a výrobkům z nich

Symbióza s nepatogenními mikroorganismy kůže, střeva, dýchacích cest je pro nás nutná a nevyhnutelná –
PROBIOTICKÝ KONCEPT

Počátek 20.století – beze znalosti antibiotik, jediný proces známý z vytlačení patogenní flóry

Ilja Iljič Mečnikov (1845 – 1916)

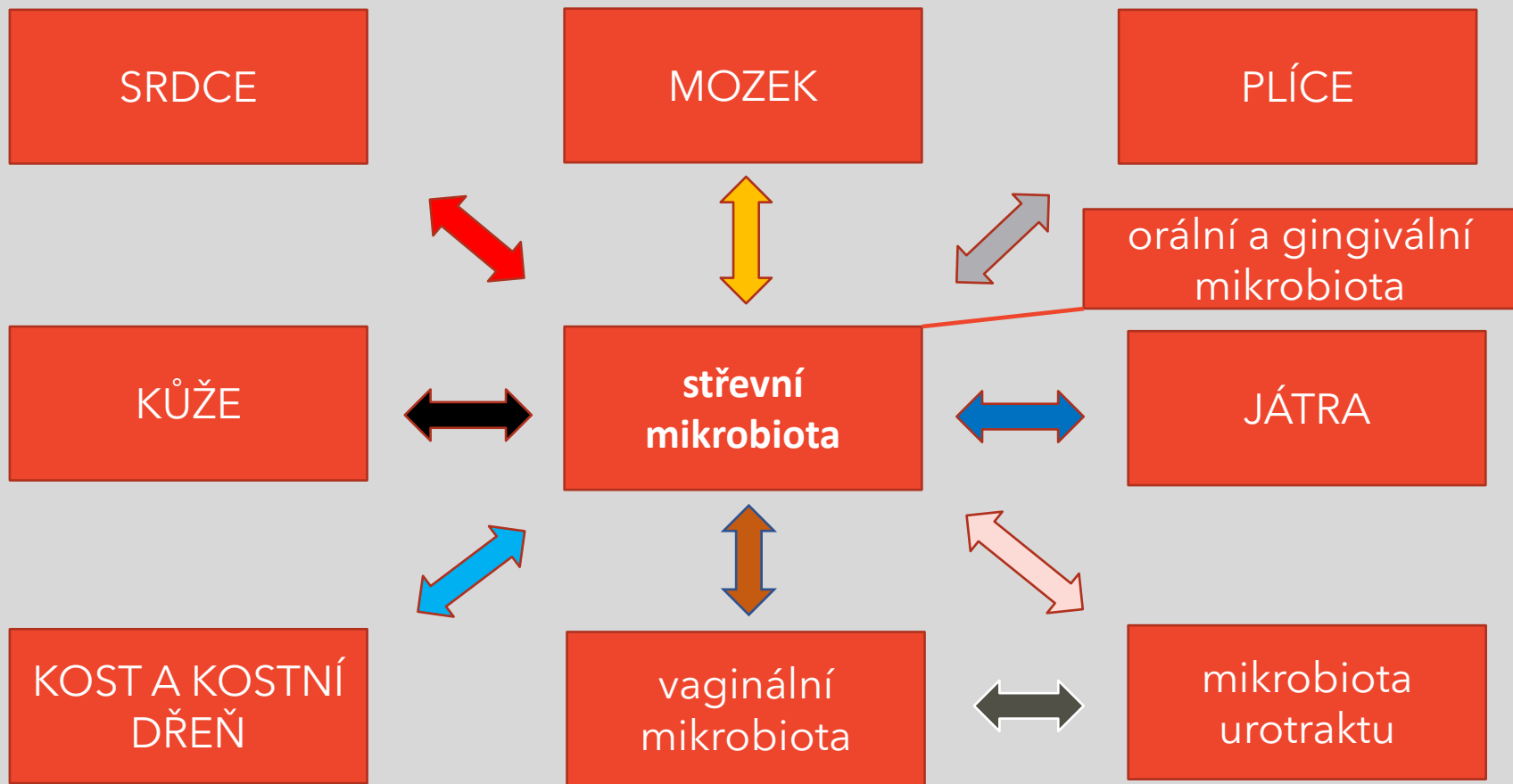
- **Koncept užívání probiotik**

- možnost **ovlivnění modifikovat střevní flóru** a nahradit potencionálně patogenní flóru užitečnými mikroby.

- **stárnutí** je způsobeno **otravou střevní flórou**, dochází k její změně při konzumaci živých jogurtů – inspirace bulharskými venkovany

- **Prodloužení života**, London 1907

- 1908 – Nobelova cena za imunologii



ZDRAVÍ dle definice WHO

„Stav kompletní fyzické, duševní a sociální pohody
a nikoliv pouhé nepřítomnosti nemoci či vady“



definice z roku 1948

Louis Pasteur, 1822 - 1895

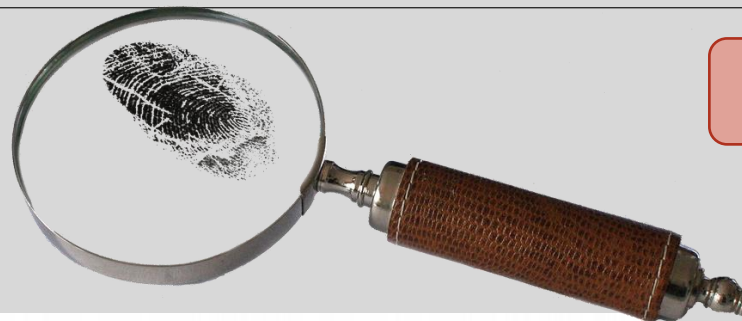
- „Role nekonečně malého je v přírodě nekonečně velká“
- Zakladatel mikrobiologie, imunologie, objevitel vakcinace proti antraxu a vzteklině, pasteurizace
- Nemoci, hniloba a zánět způsobeny živými mikroorganismy
- 1887 - Pasteurův ústav v Paříži



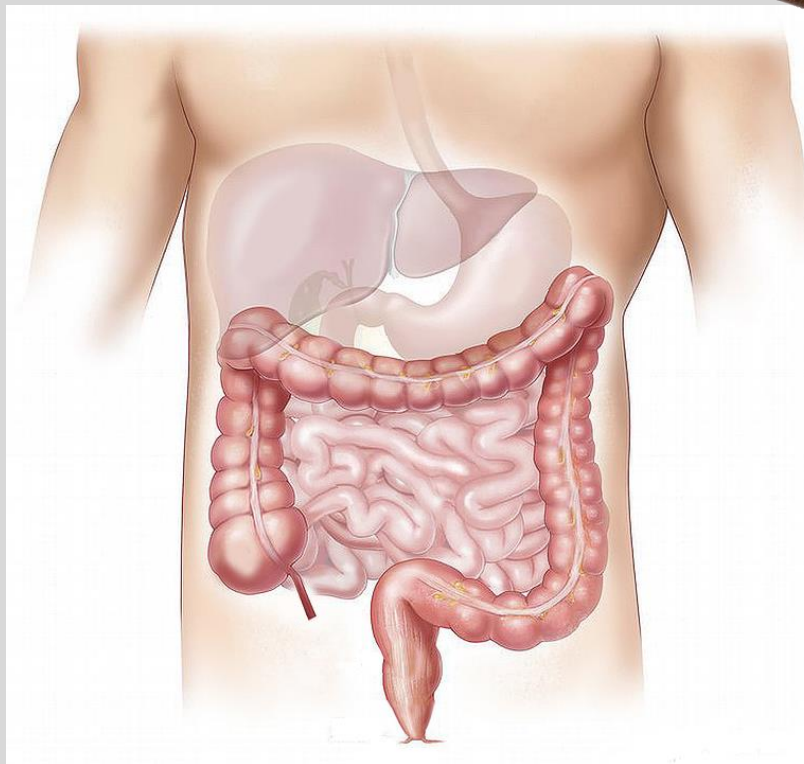
Hippokratés



460 - 370 BC



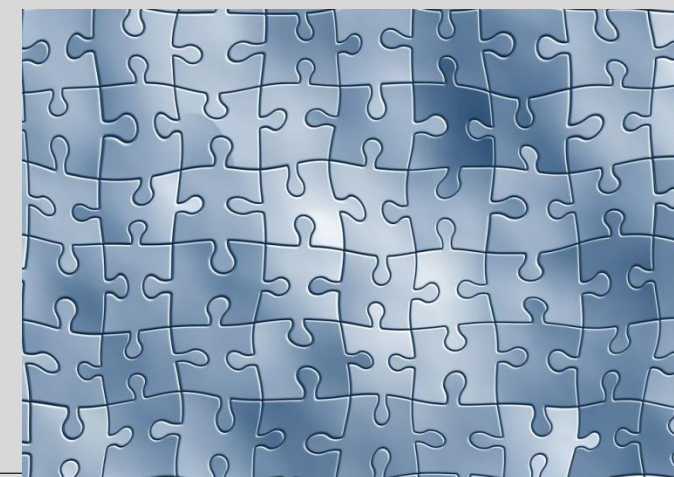
DYSBIÓZA a ONEMOCNĚNÍ



NÁSLEDEK?

PŘÍČINA?

SOUBĚH?



Syndrom dysbiotického tračníku

- **Benno et al. 2016**
- změny: **intermikrobiálních** interakcí, hostitel - mikrob, mikrobiální produkce plynů, produkce SCFA...

DYSBIÓZA

- alterace složení a funkce mikrobioty
- ovlivní nepříznivě celý organizmus
- spojována s intolerancí potravin a rovněž rostoucí prevalencí potravinových alergií
- řada nepříznivých faktorů - SC, absence kojení, antibiotika, ultra-processed food, stres, nedostatek pohybu, nadbytek dezinfekce atd.
- primárním úkolem je udržet **eubiózu** a zabránit rozvoji **dysbiózy**

je-li DYSBIÓZA ➡ upravme ji!



- **deficientní dysbióza** (ATB, nezdravé stravování, může být spojena s deficitem trávicích enzymů)
- **putrefaktivní (hnilobná) dysbióza**, s nárůstem putrefaktivních bakterií (především Bacteroides), např. při vysokém přísunu masa a tučných jídel a naopak nízkém přísunu vlákniny (fenoly, aminy a amoniak mohou způsobit gastrointestinální obtíže, ale ovlivnit i celý organismus)
- **fermentativní dysbióza**, s bakteriálním přerůstáním v tenkém střevě v souvislosti se sníženou tvorbou žaludeční kyseliny a tím zvýšenou bakteriální fermentativní aktivitou. Jedinci často hypersenzitivní ke glutenu, jejich stav bývá zhoršen při konzumaci sacharidů.
- **dysbióza spojená s abnormální imunitní odpovědí a ztrátou tolerance** vůči střevní mikrobiotě, roli hrají genetické faktory; např. u pacientů s IBD. Ve střevní mikrobiotě nacházíme méně probiotických bakterií a naopak je patrný nárůst potenciálních patogenů (patobionti), bývá narušena střevní motilita a vyjádřeny známky zánětu.
- **mykotická dysbióza**, s přerůstáním Candidy a dalších mykotických druhů, typicky při konzumaci stravy s vysokým obsahem jednoduchých cukrů a při nedostatku vlákniny.
- **dysbióza stagnační s bakteriálním přerůstáním** při alterované pasáži vlivem stenózy či obstrukce.

podle: Gagliardi A et al. 2018

CDI jako typický příklad závažné dysbiózy

M. C. Rea and others

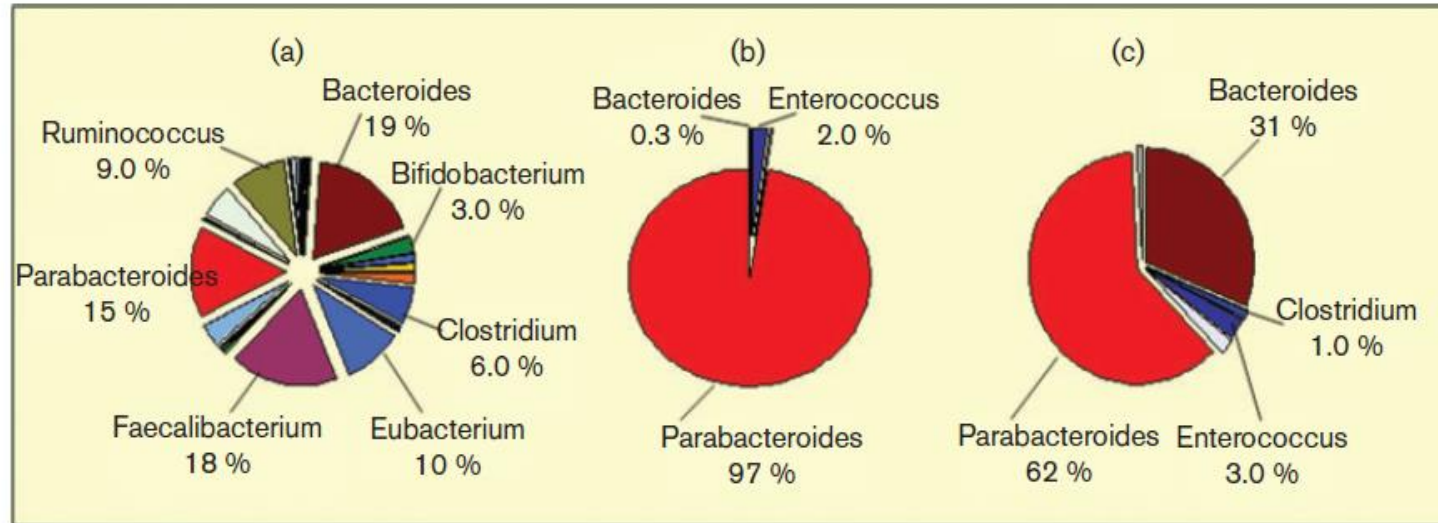


Fig. 3. Genus level diversity of gut communities of three subjects carrying *C. difficile* ribotype 027. (a) Asymptomatic carrier. (b) and (c) Patients with active CDI at the time of sampling. The results are expressed as a percentage of the total population of assigned tags. [Redrawn from Rea *et al.* (2012).]

Nádorový mikrobiom

- lze modulovat dietou, léky, prebiotiky, probiotiky, postbiotiky (Sepich-Poore GD et al. Science 2021)
- dysbióza a alterace žlučových kyselin a tumorigeneze hepatocelulárního karcinomu
(Liwei Wu et al. Biomedicine & Pharmacotherapy 2021)
- slibný efekt fekální mikrobiální terapie, která může navodit odpověď u pacientů s metastatickým melanomem,
kteří byli vůči anti-PD-1 imunoterapii primárně rezistentní
(Davar D et al. Science 2021)



Analýza fekálního mikrobiomu

- metodika odběru, nejlépe čerstvá stolice do - 80°C (optimálně ihned nebo alespoň do 15 min.)
- pro účely studia metabolomu stolice bez dalších přídatných látek
- živé bakterie skladovány v roztoku glycerolu - relativní stabilita v - 80°C
- většina metod - gen **16s rRNA** - vysoce konzervovaný, sekvenování genu = „**kdo je tam?**“
- relativní zastoupení (abundance) bakteriálních taxonů
- ampliconové sekvenování (konkrétně definované primery) versus WGS (whole genome shotgun)
- 16s rRNA sekvenační technika je levnější, neodráží vztah mezi druhy, ani funkční kapacitu, ale představuje „standard“ pro vyšetření mikrobiální diverzity a složení
- WGS a metagenomická analýza = detailnější taxonomické informace o vzorku = „**co by mohli dělat?**“
...ale detekovány viabilní buňky nebo ne? funkce? + metatranskriptomická analýza (ještě dražší než metagenomika)

- alfa - diverzita

= kolik taxonů (= OTU's) lze detekovat v 1 vzorku?

- **beta - diverzita**

= jaký je rozdíl v mikrobiálním složení 2 vzorků?



Protizánětlivé bakterie a výrobci SCFA

- *Faecalibacterium prausnitzii*
- *Roseburia faecis*
- *Bacteroides ovatus*

Analýza fekálního mikrobiomu

- fekální mikrobiom jako „souhrnná informace“ o aktuálním složení mikrobioty trávicího traktu
- nemusí odpovídat duodenálnímu mikrobiomu
- nemusí odpovídat slizničnímu mikrobiomu
- odráží složení mikrobioty, ale ne funkci
- metodika jednotlivých laboratoří může být odlišná
- učinit závěr či doporučení na základě jednorázové analýzy fekálního mikrobiomu prakticky nelze
- potenciální klíč k výběru vhodného dárce stolice? v kombinaci s metabolomem?

Ovlivnění střevní mikrobioty

- řada faktorů může ovlivnit mikrobiom - dieta, PPI, ATB...
- změny v dietě ale nemusí vždy znamenat změnu v mikrobiomu na úrovni kmene, ale spíše rodu a druhu

CAVE:

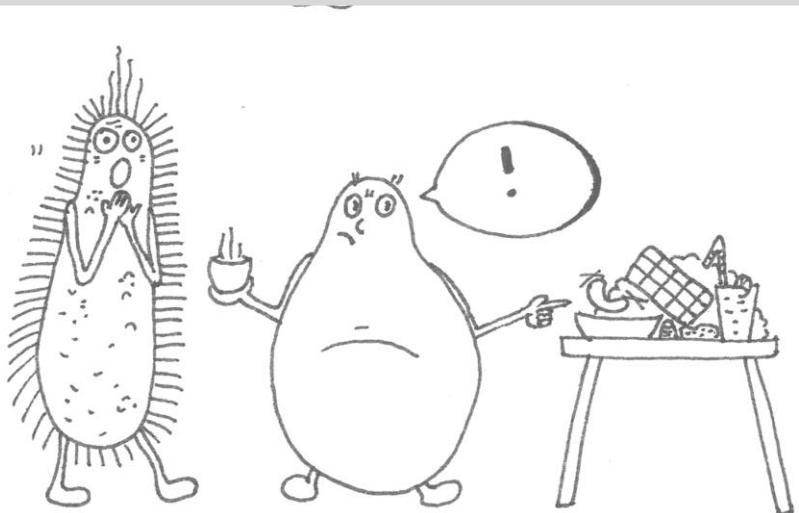
- **vysoký obsah živočišných tuků:** zvýšená tvorba polycyklických aromatických uhlovodíků a zvýšená exprese genů metabolismu AMK v případě živočišné stravy s vysokým obsahem tuků ve srovnání s rostlinnou stravou (David LA et al. Nature. 2014)
- **PPI:** analýza mikrobiomu před, 4 a 8 týdnů po zahájení PPI: zvýšeny absolutní počty fakultativních anaerobů *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* a *Enterobacteriaceae*
(Hojo M et al. Dig Dis Sci. 2018)
- **ATB:** riziko dlouhodobé ztráty některých kmenů (Jakobsson HE et al. PLoS One. 2010)
- ...

Střevní mikrobiota ovlivnění

- Za den **70 - 100 g** dietních reziduí do tlustého střeva, kde jsou využity bakteriemi
- **Rezidua** - nerozložené cukry (oligo- a polysacharidy = vláknina, rezistentní škrob, laktulóza, laktóza (!)...), ale i tuky, peptidy...
- Metabolická aktivita bakterií odpovídá metabolické aktivitě jater
- **Produkce** - SCFA (acetát, propionát, butyrát ...), AAs, polyfenoly, metan, vitaminy K a řady B, CO₂

DIETA

- obrovský potenciál v léčbě onemocnění
- dieta **CD-TREAT** (individualizovaná dieta sestavená z běžných potravin s vyloučením lepku, laktózy a alkoholu, ale současně s dostatečným obsahem vitamínů, minerálů, vlákniny a makronutrientů)
→ obdobné změny ve střevní mikrobiotě a **obdobný efekt jako exkluzivní enterální výživa**.
- dieta byla dobře snášena, navíc potenciál snížit aktivitu onemocnění a střevní zánět u dětí s floridní Crohnovou chorobou ([Svolos V et al. 2019](#))
- ale CAVE: nezaměřovat se pouze na makronutrienty, ale i např. na polyfenolové sloučeniny např. taniny



POHYB

- „elitní hráč rugby“ x „neatlet“: ↓ Bacteroidetes a ↑ Firmicutes
- mírné cvičení ↑ Firmicutes (vč. *Faecalibacterium prausnitzii*)
- pravidelné cvičení vedlo ke zvýšení různorodosti střevní mikrobioty a ↑ Firmicutes



(Clark et al. 2014)

SPECIFICKÉ MODULÁTORY MIKROBIOTY

- prebiotika, probiotika, psychobiotika, synbiotika, postbiotika

pozitivní signifikantní efekt probiotik
v indikacích:

prevence a léčba pouchitidy,
infekčního průjmu,

IBS,

infekce *Helicobacter pylori*,
infekce *Clostridioides difficile*,

postantibiotického průjmu,

naopak nepozorován signifikantní efekt
v indikaci: cestovatelské průjmy

efekt ve všech věkových
skupinách, u probiotik mono
i multikomponentních,
u různých délek podávání;
z 11 druhů probiotik vč. směsí
nepozorován signifikantní efekt
u *Lactobacillus acidophilus*,
Lactobacillus plantarum
a *Bifidobacterium infantis*

jako klíčové faktory
zvážit probiotický kmen,
typ onemocnění
a indikaci:

preventivní
nebo **terapeutická**

Ritchie ML et al. 2012

- bakteriociny, predátorské bakterie, fágová terapie, fekální mikrobiální terapie

- bakteriociny s potenciálem vůči některým patogenům - VRE, C. Diff., *Salmonella enteritidis*
- predátorské bakterie např. *Bdellovibrio bacteriovorus* - potenciál vůči MDR, *Pseudomonas aeruginosa*
- fágová terapie - výsledky nejednoznačné, léčba se jeví jako bezpečná
- **fekální mikrobiální terapie** - standardní nástroj převýchovy střevní mikrobioty v indikaci rekurentní CDI



ANALÝZA MIKROBIOMU A POTENCIÁLNÍ KLINICKÉ VYUŽITÍ

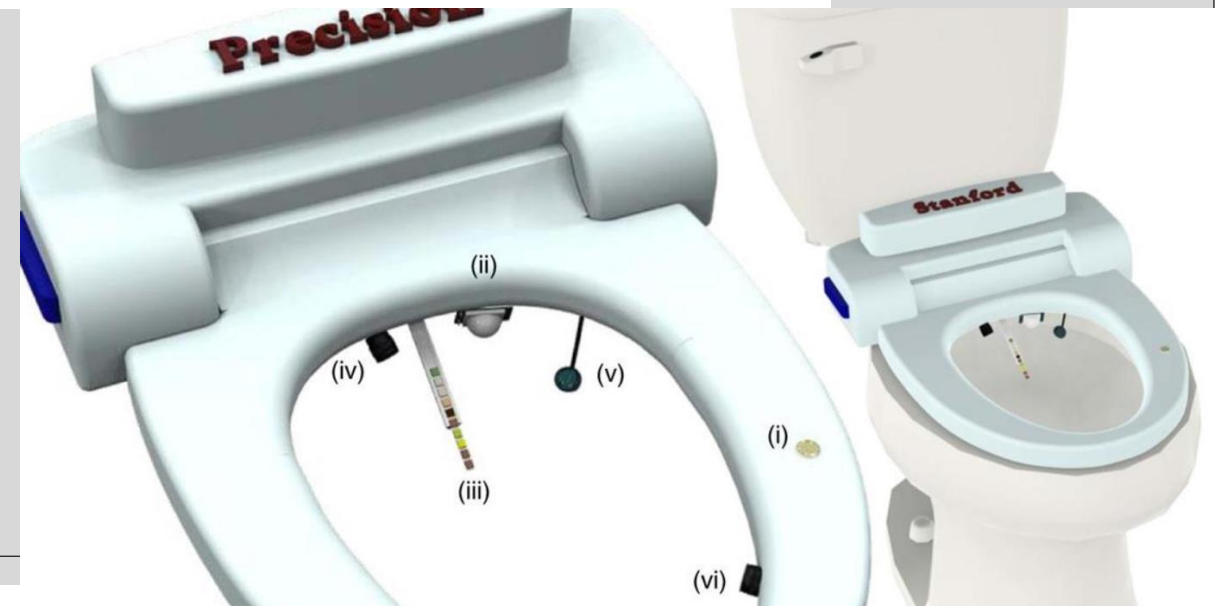
- kolorektální karcinom - např. nedostatek SCFA, resp. *Faecalibacterium*, *Roseburia*...
- tumory žaludku - bakteriální podíl na tvorbě N-nitrososloučenin s karcinogenním potenciálem?
- IBD - narušená bakteriální diverzita a stabilita, **více narušena stabilita a především funkce?**
- NAFLD - problematika střevní permeability
- CDI - typicky závažná devastace mikrobioty
- IBS - snížená mikrobiální diverzita, více Firmicutes, méně Bacteroidetes??
- + diabetes mellitus 2. typu?, deprese?, kardiovaskulární onemocnění?, další onemocnění?

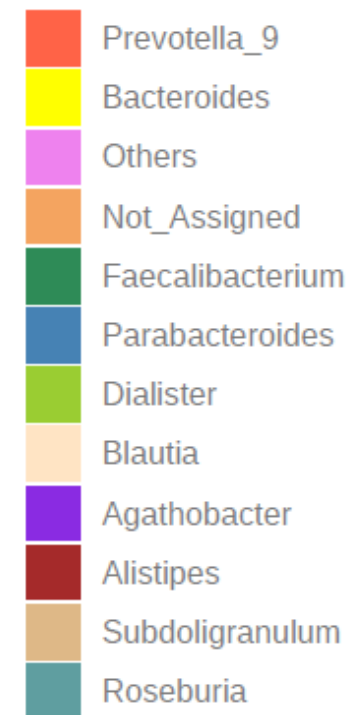
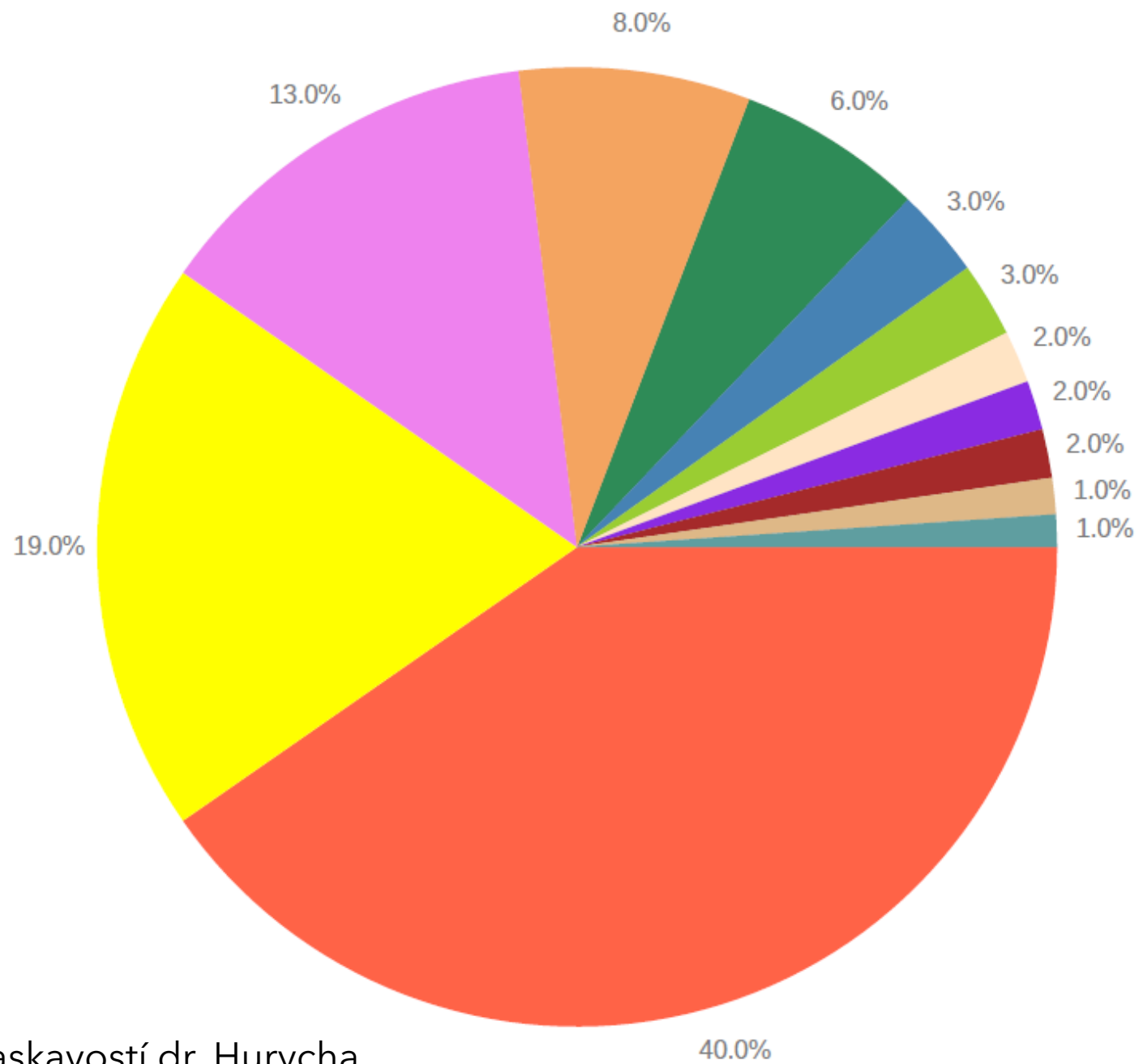
Article | Published: 06 April 2020

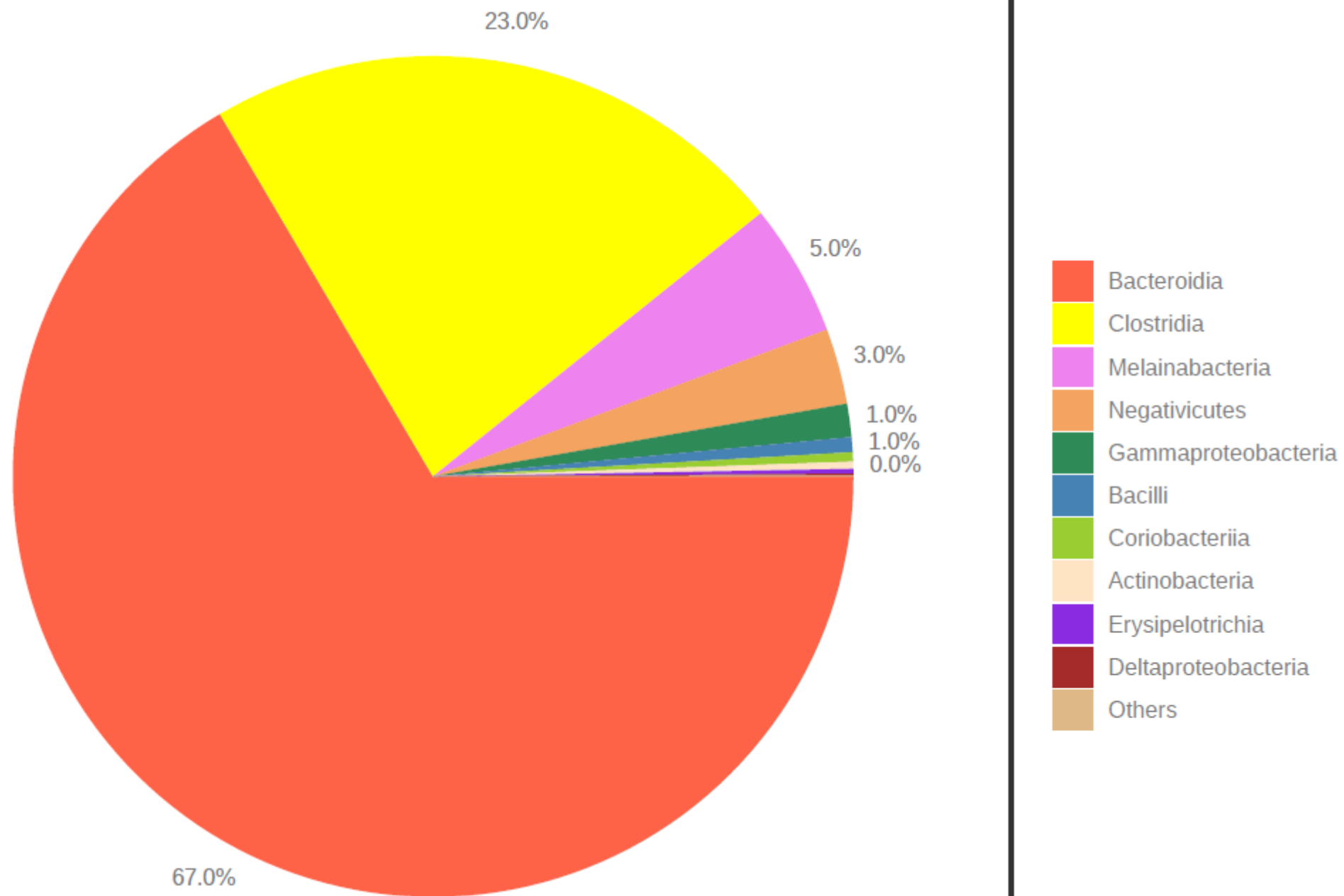
A mountable toilet system for personalized health monitoring via the analysis of excreta

Seung-min Park, Daeyoun D. Won, Brian J. Lee, Diego Escobedo, Andre Esteva, Amin Aalipour, T. Jessie Ge, Jung Ha Kim, Susie Suh, Elliot H. Choi, Alexander X. Lozano, Chengyang Yao, Sunil Bodapati, Friso B. Achterberg, Jeesu Kim, Hwan Park, Youngjae Choi, Woo Jin Kim, Jung Ho Yu, Alexander M. Bhatt, Jong Kyun Lee, Ryan Spitler, Shan X. Wang & Sanjiv S. Gambhir 

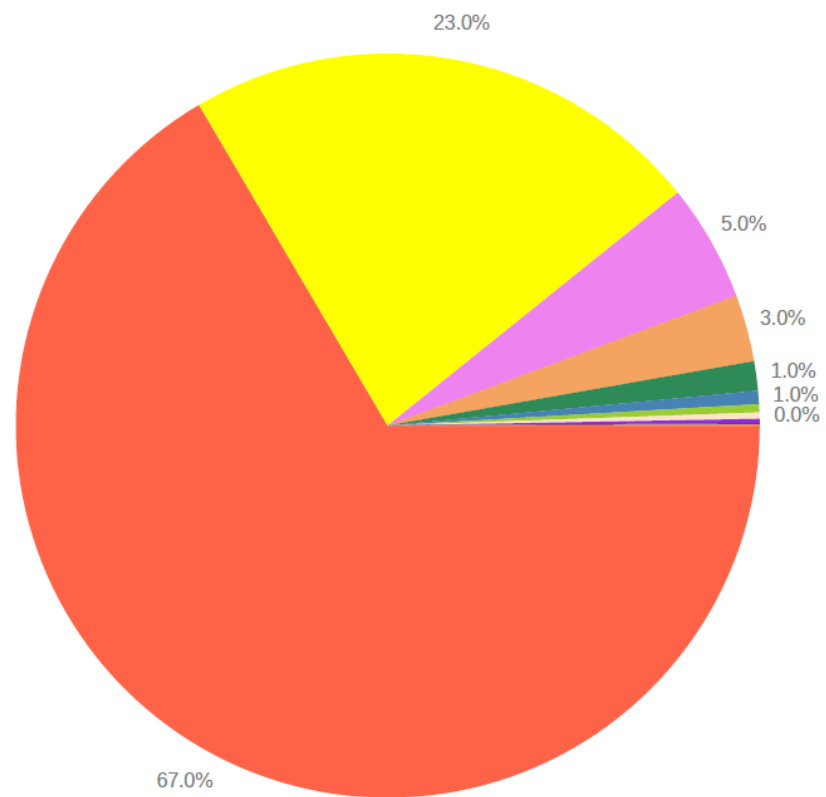
Nature Biomedical Engineering **4**, 624–635 (2020) | [Cite this article](#)



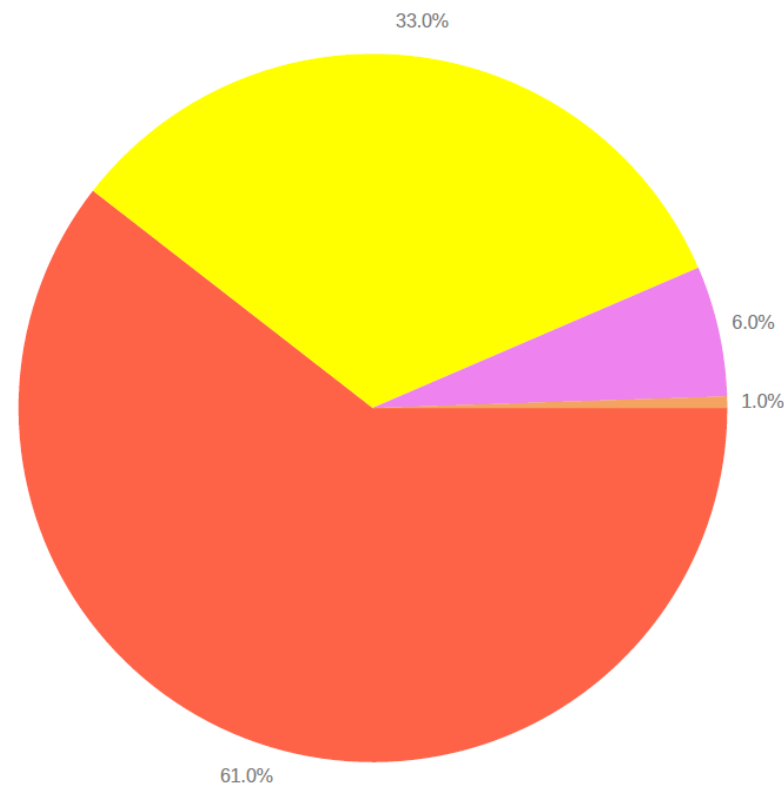




poskytnuto laskavostí dr. Hurycha



- Bacteroidia
- Clostridia
- Melainabacteria
- Negativicutes
- Gammaproteobacteria
- Bacilli
- Coriobacteriia
- Actinobacteria
- Erysipelotrichia
- Deltaproteobacteria
- Others



- Bacteroidetes
- Firmicutes
- Proteobacteria
- Actinobacteria

poskytnuto laskavostí dr. Hurycha

Je to takto jednoduché??

The microbiome analysis shows a clear predominance of Firmicutes over Bacteroidetes. The Firmicutes-Bacteroidetes ratio is increased. This can be a problem, especially in the case of obesity or irritable bowel syndrome.

The total bacteria count of **sulphate reducing bacteria is increased** indicating increased **H₂S production**.

The color of the analysed stool sample was brown. The **pH-value** was **above normal range** at 6,9.

The analysis indicates **adequate biodiversity**.

Analýza ukázala zvýšený poměr Firmicutes/Bacteroidetes, posun je typický pro osoby s predispozicí k obezitě, ale i u aktivních sportovců???

Váš mikrobiom vykazuje výrazné známky poškození????

- 1./ CLP Tabs: 3/den (1-1-1) [nechat rozpustit v ustech]
- 2./ Redoxinal: 2/den (1-1-0)
- 3./ Serenity: 2/den (0-0-1-1) [1x vecer a 1x 1/2h pred spanim]
- 4./ Vigorral: 3/den (1-1-1)
- 5./ Multispektrum 24/7: 2/den (1-1-0)
- 6./ Calcium Bio-Bojda: 2/den (1-0-1)
- 7./ OnGuard: 2/den (1-1-0)
- 8./ NK FORTE: 2/den (1-1-0)
- 9./ Enzym-wied Tabs: 10/den (3-3-4) [25 minut pred jidlem]***./SET**
- 10./ Curcumin Gel: 1/den (0-1-0)
- 11./ Probit: 4/den (1g-1y-1g-1y)*./SYMBIO [stridave zelene a zlute]**
- 12./ Revivit: 4 ploche kav. lzicky/den (1.5-1-1.4) nebo 8 kapsli/den (3-2-3)
- 13./ NK LIFE AHCC: 2/den (1-0-1)**./Nano-produkt**
- 14./ Nucleocell: 2/den (0-1-1)**./Nano produkt**
- 15./ Immunopro: 1.5 plocha kav. lzicka/den (1-0-1/2)
- 16./ L-Glutathione: 2/den (0-1-1)
- 17./ Symbiolact B: 3/den (1-1-1)*./SYMBIO**
- 18./ Lactobiogen: 2/den (1-0-1)*./SYMBIO**
- 19./ Bioflorin: 2/den (1-0-1)*./SYMBIO**
- 20./ OMNI-LACTIS Biogena: 2/den (0-1-1)*./SYMBIO**
- 21./ Intestaid: 2/den (0-1-1)*./SYMBIO**
- 22./ MG Bio Bojda: 2/den (1-0-1)
- 23./ Omega 3 Doterra: 2/den (1-0-1)
- 24./ OS-1: 15 kapek/den (0-0-15) [do vody a vypit]
- 25./ DCW/CLP Kolostrum Prasek: 1 caj. lzicka/den (0-0-1) [v jogurtu, kasi atd., a snist]
- 26./ PB Assist: 2/den (1-1-0)*./SYMBIO**
- 27./ FERROGEL Italy: 1/den (0-1-0)
- 28./ Zendocrine: 2/den (1-0-1)





Klinické aspekty „modulace“ mikrobioty i bez znalosti složení mikrobiomu

- zaměřit se vždy na informace související s genezí a integritou mikrobioty (anamnéza střevní mikrobioty)
- zachovat enterální přísun živin, pokud je to alespoň parciálně možné
- zachovat dostatečný přísun vlákniny
- individualizovat probiotickou a synbiotickou intervenci (+postbiotickou)
- dodržovat zásady racionální antibiotické terapie
- revidovat chronickou medikaci - cave: PPI a další medikace
- souběh pohybového režimu a intenzivní individualizované nutriční péče
- udržet střevní eubiózu a ovlivnit příznivě i mikrobiotu „přechodných zón“
- pátrat po dysbióze, která může zhoršovat alergická, autoimunitní onemocnění či intolerance
- zabránit abúzu návykových látek



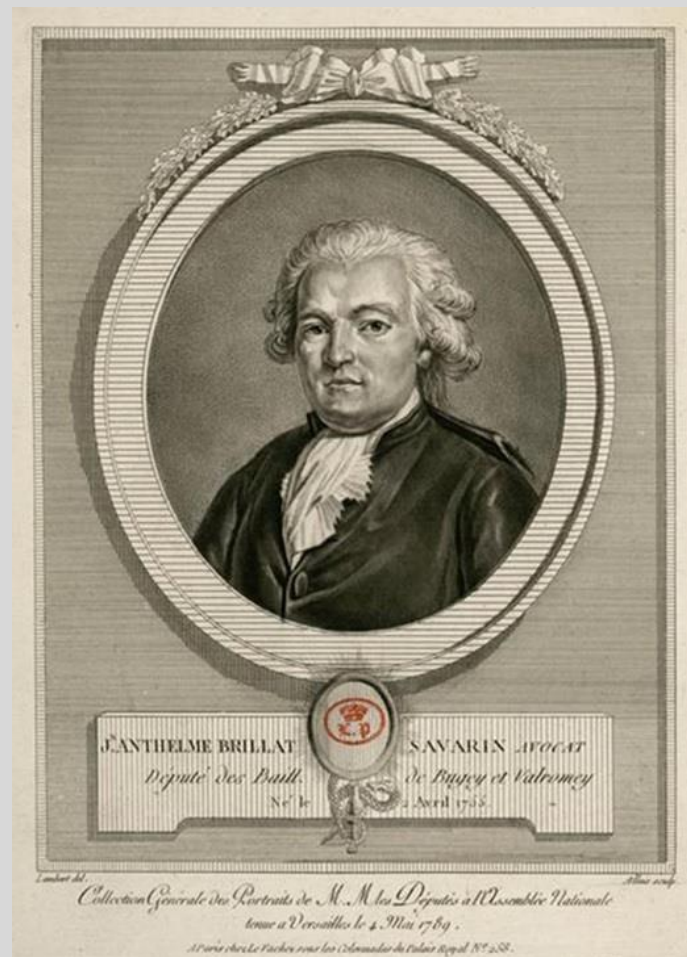
Stanovisko České mikrobiomové společnosti 24.1.2021

- Stav poznání ve věci souvislosti složení mikrobiomu/mikrobioty s jednotlivými chorobami nebo chorobnými stavy **není na takové úrovni, aby umožňoval zodpovědně určit jakoukoli terapii.**
- Neexistuje žádná přímá souvislost typu virus-chřipka. **Problematika je příliš komplexní a dosud nedostatečně poznaná.**
- V každém případě je vhodné a důležité o svou střevní mikrobiotu pečovat a podporovat ji zdravou stravou s množstvím vlákniny, přirozenými probiotiky typu živých jogurtů, kysaných výrobků a kvašené zeleniny a dostatečným pohybem a pobytem na čerstvém vzduchu. To je důležité pro každého zdravého člověka, nemocní lidé by měli vždy své stravování konzultovat s lékařem. Očekávat ale zlepšení konkrétního zdravotního problému na základě komerční analýzy mikrobiomu a předepsání probiotik „na míru“ může být často vyhazováním peněz. Doporučujeme takovou „investici“ velmi pečlivě zvážit

Scio me nihil scire?



„Řekni mi, co jíš, a já ti řeknu jaký jsi“



Physiologie du goût, 1825

Jean Anthelme Brillat-Savarin (1755 - 1826)

Řekni mi, jakou máš stolicí, a já ti řeknu...



Prof MUDr Vladimír Vondráček, DrSc

1895 - 1978

...který se ptal pacienta při vizitě na jeho stolicí a skoro pohoršeně se divil, že si ji vždy neprohlédne...

Čes a slov Psychiat 2011; 107(2): 121-128

MISCEAT

FMT u pacientů s IBS - D a IBS - M: randomizovaná, dvojitě zaslepená studie s překříženým designem s využitím směsné mikrobioty získané od zdravých dárců

- Pavel Kohout, Jiří Vejmelka, Sandra Summerová, Natálie Friedová, Jakub Hurych, Lenka Kramná, Lucie Vodolánová, Ondřej Cinek
- Interní klinika 3. LF UK a FTN & Ústav lékařské mikrobiologie 2. LF UK a FNM
- podpořeno grantem MZ ČR 19-01-00127
- longitudinální charakter
- aktivní substance a „placebo“ obsahují **stejnou** směs bakterií
- bude provedena analýza mikrobiomu vč. bakteriomu, viromu a single-cell parazitů
- podání formou klyzmatu - celkem 4x

Závěr

Analýza mikrobiomu = přináší nové informace

Význam analýz mikrobiomu pro výzkum, zejména je-li v rámci klinické studie hodnocen i jídelníček, pohybový režim a další faktory

Komerční analýzy mikrobiomu nemají t.č. diagnostický význam

Všechna onemocnění pocházejí ze střev (Hippokratés)
= perspektivy analýz (střevní) mikrobioty + metabolomu

Stále není definován „zdravý“ mikrobiom, ale jsou k dispozici obecná doporučení, jak mikrobiotu příznivě podpořit - strava s dostatečným obsahem vlákniny, adekvátní pohybový režim, psychohygiena...



„Photo-sonic restoration hypothesis“

- můžeme snížením světelného a zvukového smogu **opravit globální mikrobiotu a stabilizovat tak ekosystém?**

(Robinson JM et al. Front. Ecol. Evol. 2021)



Děkuji Vám za pozornost !

