

# Slizniční a kožní imunita

Mgr. Marcela Vlková

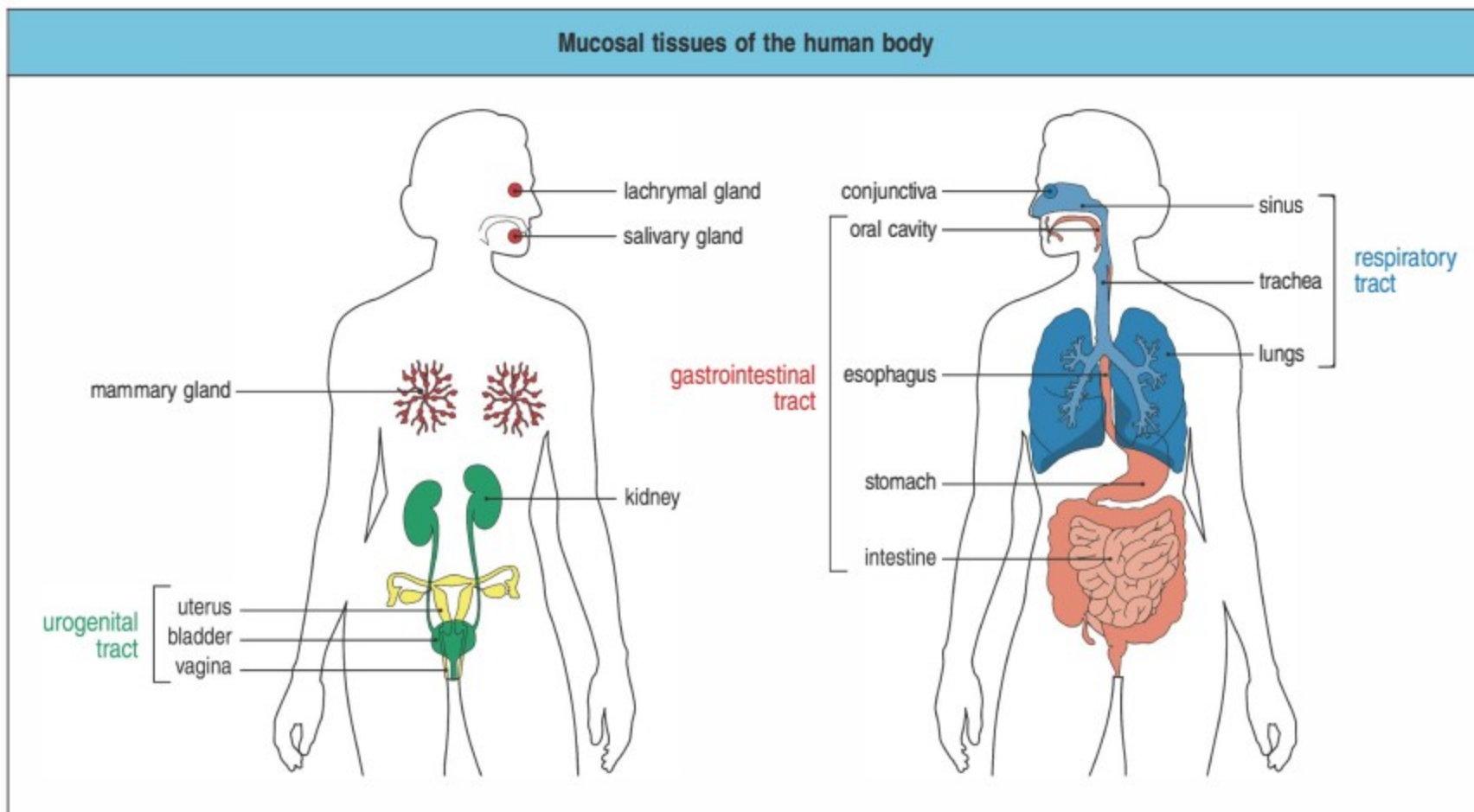
# Slizniční povrchy

- Oddělení vnějšího prostředí od vnitřního prostředí člověka
- Slizniční povrchy jsou zodpovědné za resorpci živin, výměnu plynů x obrovské množství podnětů (složky potravy, fyziologická mikroflóra, indiferentní mikroflóra, enviromentální podněty) – nesmí dojít ke vzniku imunitní odpovědi.
- X patogenní mikroby – nutná imunitní reakce – eliminaci patogenů – reparace poškození

# Mukózní imunitní systém – MALT (Mucosa- Associated Lymphoid Tissue)

- GALT – Gut- Associated Lymphoid Tissue – slizniční imunitní systém trávicího traktu
- BALT – Bronchus-Associated Lymphoid Tissue- slizniční imunitní systém dýchacího traktu
- NALT- Nasal – Associated Lymphoid Tissue – nasální imunitní systém
- Močopohlavní slizniční imunitní systém
- Oko, slinné žlázy, střední ucho

# Společný imunitní systém sliznic



# Regionalizace imunitního systému

**TABLE 13–1 Features of Regional Immunity**

Region	Special Challenges	Special Anatomic Features	Specialized Cells or Molecules: Functions
Gastrointestinal tract	Tolerance of food antigens Tolerance to commensal microbiota but responsive to rare pathogens Enormous surface area	Tonsils Peyer's patches, lamina propria follicles	Intestinal epithelial cells: mucus secretion M cells: luminal antigen sampling Paneth cells: defensin production Secretory IgA, IgM: neutralization of microbes in the lumen DC subsets: luminal antigen sampling; lamina propria antigen sampling; T cell tolerance induction; effector T cell activation; induction of B cell IgA class switching; imprinting gut-homing phenotypes of B and T cells
Respiratory system	Exposure to mix of airborne pathogens and innocuous microbes and particles	Adenoids	Ciliated respiratory epithelial cells: mucus and defensin production and movement of mucus with trapped microbes and particles out of airways Secretory IgA, IgM, IgG: neutralization of microbes outside epithelial barrier
Cutaneous immune system	Large surface area	Keratinizing stratified squamous epithelial barrier	Keratinocyte: keratin production, cytokine and defensin secretion Langerhans cell: epidermal antigen sampling DC subsets: dermal antigen sampling; T cell tolerance induction; effector T cell activation and imprinting skin-homing phenotype

# Regionalizace imunitního systému

**TABLE 13–2 Numbers of Lymphocytes in Different Tissues**

Spleen	$72 \times 10^9$
Bone marrow	$50 \times 10^9$
Blood	$10 \times 10^9$
Skin	$20 \times 10^9$
Gastrointestinal tract	$50 \times 10^9$

Data from Clark RA, B Chong, N Mirchandani, NK Brinster, K Yamanaka, RK Dowkiert, and TS Kupper. The vast majority of CLA<sup>+</sup> T cells are resident in normal skin. *Journal of Immunology* 176:4431-4439, 2006; Ganusov AA and De Boer RJ. Do most lymphocytes in humans really reside in the gut? *Trends in Immunology* 28:514-518, 2007.

# Každý regionální imunní systém má

- Vlastní unikátní anatomii zahrnující sekundární lymfoidní tkáně.
- Zahrnuje speciální typy buněk a molekul, které se zřídka vyskytují v jiných místech (Langerhansovy buňky v kůži, M buňky ve střevě, Tlymfocyty  $\gamma, \delta$  v epitelu, B lymfocyty produkující IgA v mukóze).
- Vlastní imunoregulační mechanismy.

## Sliznice a kůže (epitelem kryté povrchy)

- Povrch sliznic zažívacího traktu..... 200 m<sup>2</sup>
- Povrch dýchacího traktu..... 80 m<sup>2</sup>
- Povrch kůže ..... 2 m<sup>2</sup>
- Podněty: potrava ..... ~ tuny  
mikrobiota ..... 10<sup>14</sup> bakterií  
antigeny ve vzduchu
- Obměna epitel. buněk střeva ..... 10<sup>11</sup>/den
- Produkce IgA (převyšuje ostatní isotypy)... 3-5g/den
- 90% infekčních agens vstupuje sliznicemi
- 80% imunologicky aktivních buněk organismu je ve sliznicích



# Slizniční imunitní systém gastrointestinálního traktu GALT

- Difúzně rozptýlené lymfoidní buňky střevní sliznice
- Agregáty lymfoidních buněk v mukózní vrstvě
- Peyerovy pláty
- Apendix
- Mezenterické lymfatické uzliny
- Játra

# Imunita gastrointestinálního systému

2 základní charakteristiky:

Mukóza tenkého a tlustého střeva – větší než 200m<sup>2</sup> (velikost tenisového kurtu)

500 různých druhů bakterií – dohromady 10<sup>14</sup> buněk – 10x více než buněk člověka

Soustředěno okolo 80% imunokompetentních buněk těla – největší lymfytický orgán ) spolu s kůží.

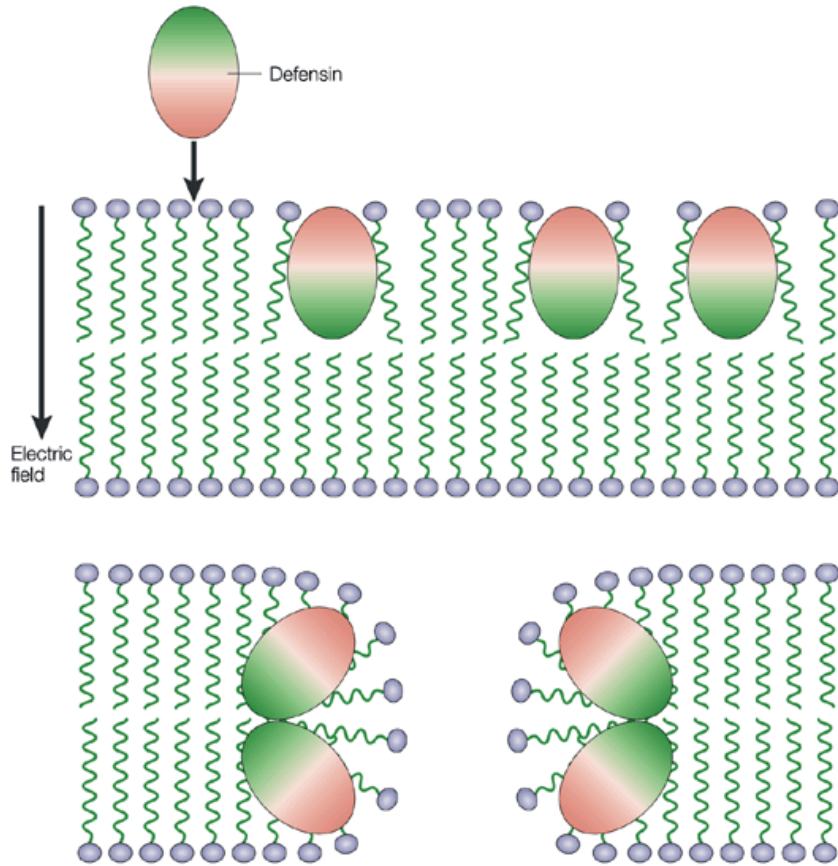
# Antimikrobní mechanismy na sliznicích

Faktor	Mechanismus
komensální bakterie	kompetice s exogenními mikroby, produkce protizánětlivých látek
těsné spoje epitelu	brání průniku bakterií
řasinky	zachytávají mikroby
mucin	zachytává bakterie
lysozym	zabíjí G+ bakterie (stěny)
laktoferin	váže železo (inhibice růstu mikrobů)
laktoperoxidasa	usmrcuje bakterie (volné radikály)
antibiot. peptidy	usmrcují bakterie
sekreční Ig	blokuje adheenci bakterií k epitelu

# Antimikrobiální peptidy

- **Cathelicidiny** - kationické peptidy  
neutrofilní leukocyty, některé epitelové buňky, mastocyty,  
účinkují jako přirozená mikrobicidní antibiotika
- **Defensiny** - kationické peptidy  
 $\alpha$ -defensiny – neutrofily, Panethovy buňky tenkého  
střeva, mají významnou roli při zánětu,  
hojení ran a zasahují i do imunity získané
  - $\beta$ -defensiny - epitelové buňky ústní sliznice bronchů,  
urogenitálního traktu, epidermis
- jejich vazba na fosfolipidové membrány mikrobů vede k porušení její integrity a k zabití mikroba

# Funkce defensinů



# Každý regionální imunní systém má

- Vlastní unikátní anatomii zahrnující sekundární lymfoidní tkáně.
- Zahrnuje speciální typy buněk a molekul, které se zřídka vyskytují v jiných místech (Langerhansovy buňky v kůži, M buňky ve střevě, Tlymfocyty  $\gamma, \delta$  v epitelu, B lymfocyty produkující IgA v mukóze).
- Vlastní imunoregulační mechanismy.

# GALT - The gastrointestinal associated lymphoid tissue

- (GALT) gastrointestinální lymfatická tkáň slouží jako
  - bariéra proti vniku a rozmnožování patogenů uvnitř hostitele
  - indukční místo pro nespecifickou a specifickou imunitní odpověď
  - místo pro rozmnožování a vývoj buněk imunitního systému

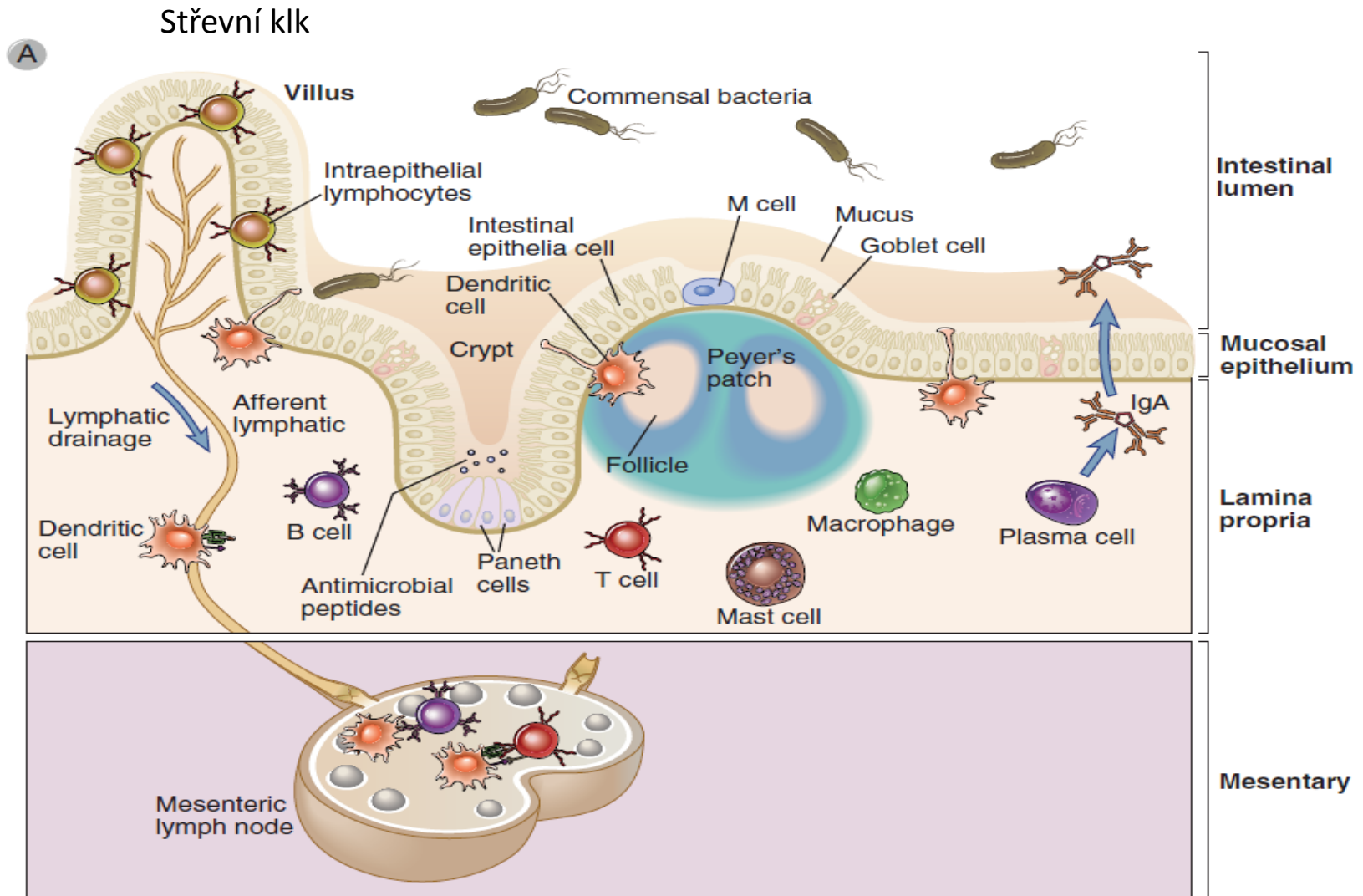
# Buňky střevního epitelu

Vznikají diferenciací multipotentní kmenové buňky:  
4 typy buněk:

- Enterocyty, kolonocyty v tlustém střevě  
rychlá obměna - 18 h
- Pohárkové buňky - granula mucinu produkují hlen
- Panethovy buňky - na dně krypt tenkého střeva,  
sekreční granula - defensiny, žijí 20 dní
- M- buňky - v epitelu kryjícím lymfatické folikuly



# Gastrointestinální imunitní systém



# Úloha epitelových buněk

- Přímá ochrana před vniknutím mikroorganismů
- Kooperace s intraepitelovými T-lymfocyty pomocí adhezivních interakcí
- Produkce humorálních složek regulujících aktivitu epitelových buněk

# Buňky střevního epitelu

- Obměna je regulována mírou expozice potravním faktorům.
- Podvýživa či absence potravinových podnětů vede k atrofii epitelové vrstvy.
- Stimulace proliferace epitelových buněk působením mikrobiálních podnětů – výrazně omezena u bezmikrobních zvířat.

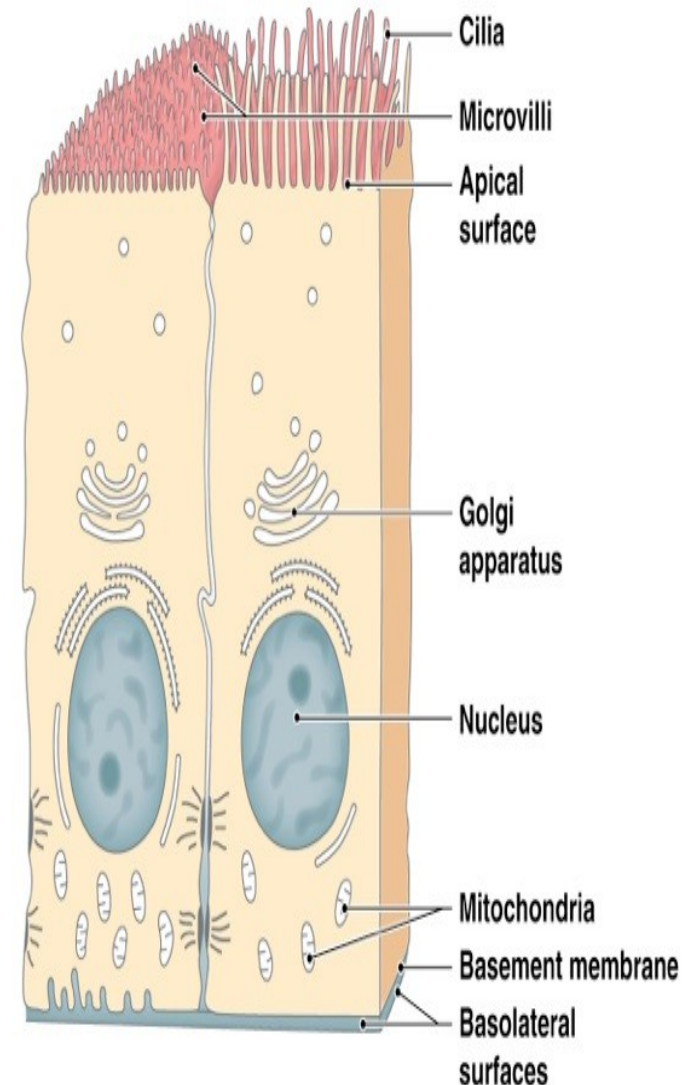
# Epitelové buňky

- Bez aktivace nízká exprese TLR2 a TLR4
- Po aktivaci produkce prozánětlivých cytokinů: TNF alfa, GM-CSF, IL-8, zvyšování exprese TLR4
- Přítomny receptory pro IL-2 a další cytokiny
- Po aktivaci zvýšení exprese HLA-II, působením IFN- $\gamma$  – produkován intraepitelovými T-lymfocyty, zvyšuje se schopnost ep. buněk prezentovat Ag
- Konstitutivně přítomna molekula CD1d – předkládání antigenů ne-proteinové povahy – např. lipopolysacharidů

# Buňky střevního epitelu

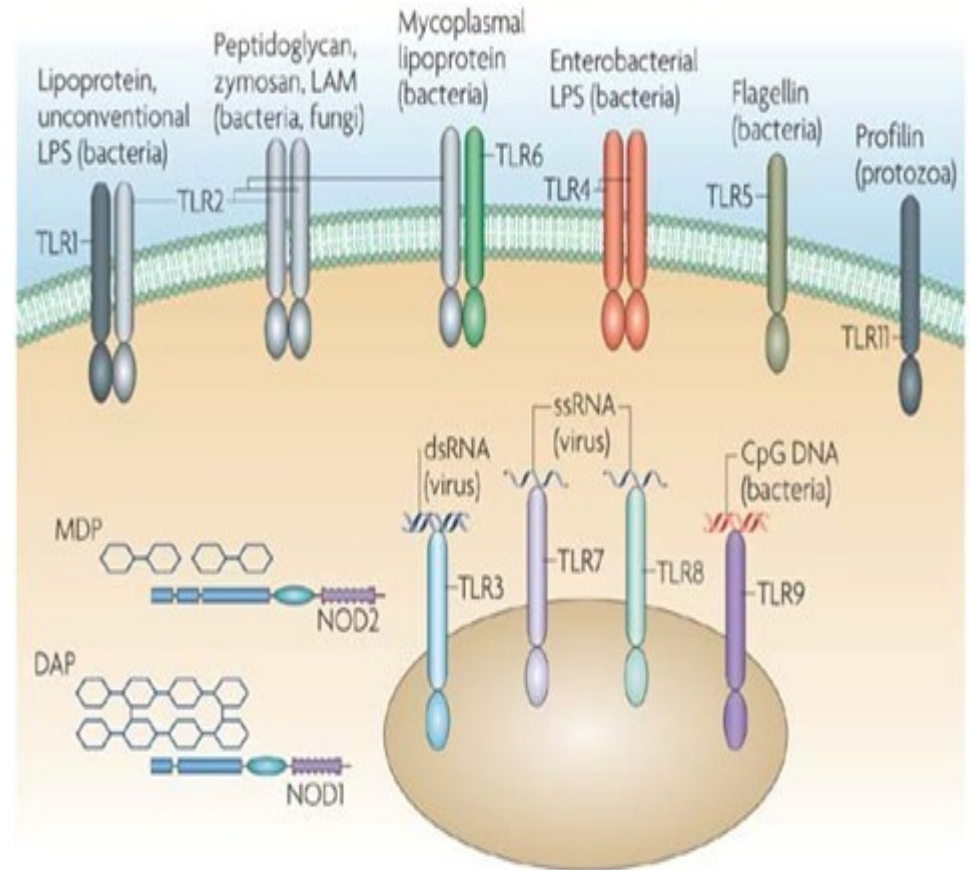
## • Epitelové buňky

- Součást fyziologických bariér: pevné spojení epitel. buněk, tvorba hlenu, rychlá obnova slizniční vrstvy
- Krátce žijící, 3-5 dní, rychlá obměna
- Mikrob, který pronikl do epitelové buňky, nemůže invadovat do podslizniční vrstvy díky rychlému odlučování buněk.
- Udržování střevní homeostázy regulací absorpce vody, elektrolytů a živin
- Povrch buněk chráněn a muciny - tvorba hlenu a glykosaminoglykany – glykokalyx obojí produkováno každých 6 -12 hodin
- Schopny diskriminace mezi patogenní a nepatogenními mikroorganismy – zajištěno intracelulární lokalizací PRR receptorů (TLR2,4,5,6,7,9; NLR, receptory pro flagelin).



# PRRs and PAMPs epitelových buněk střeva

- TLR, NOD, RIG-like receptory
- Nejsou ukázány: RIG-like intracellulární receptory vážící virovou dsDNA
- NOD-like receptory váží:
  - *MDP=muramyldipeptide*
  - *DAP=D-glutamyl-mesodiaminopimelic acid*

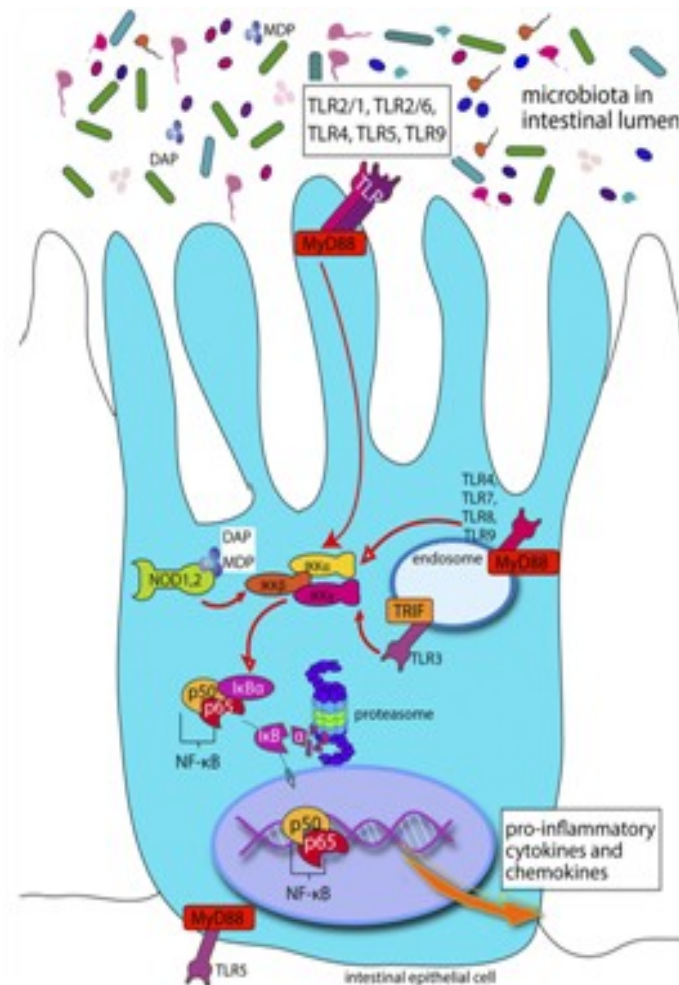


Nature Reviews | Microbiology

Reprinted from Nature Reviews Microbiology Volume 5, Kaufman, S.H.E. The contribution of immunology to the rational design of novel antibacterial vaccines, p491-504, Figure 2. Copyright (2007) with permission from Nature Publishing Group.

# Epitelové buňky GIT rozeznávají mikroby vážící se na PRR

- Zapojení PAMPs aktivuje intracelulární signalizační kaskádu
- Následuje genová transkripce a tvorba cytokinů a chemokinů.
- Tyto signály působí na přivolání imunitních buněk, které posílí reakci epitelových buněk a tím dojde k omezení mikrobiální expanze nebo invaze.
- Odpovídající buňky imunitního systému v GALT zahrnují efektorové buňky přirozené imunity: neutrofilové makrofágy, dendritické buňky, eosinofily, žírné buňky) a adaptivní efektorové T a B lymfocyty).



Reprinted with permission from Proceedings of the National Academy of Sciences. Wells, JM et al, Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface, Figure 11. 108: 4607-14, 2011.

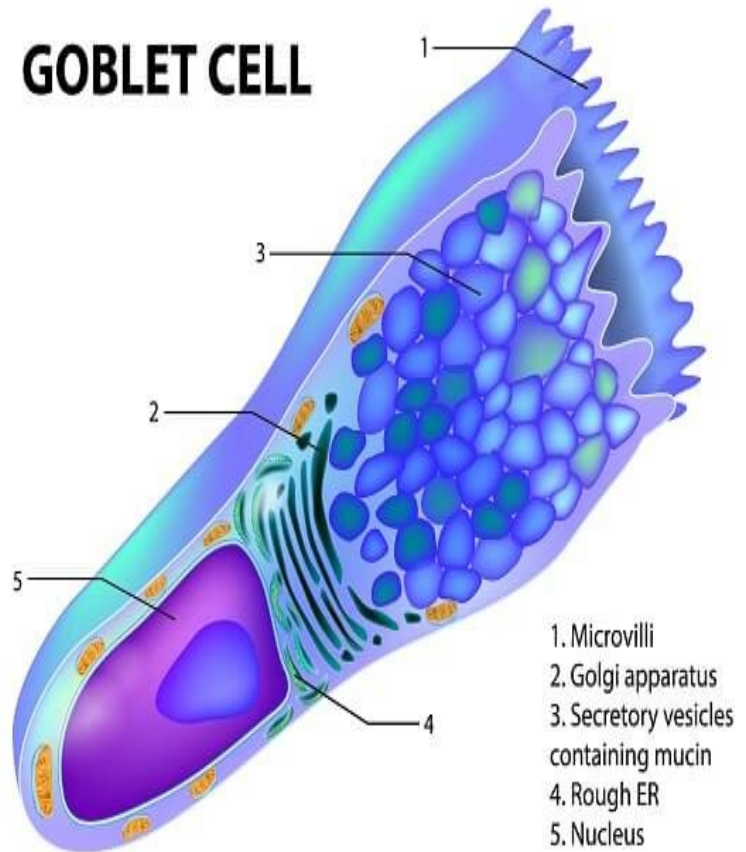
# Epitelové buňky střeva

- Na svém povrchu mají Fc receptory: FcγRII a FcγRIII a dále neonatální FcRn.
- Neonatální FcRn – přenos mateřských IgG in utero.
- U dospělých přenos imunokomplexů IgG a ciz. Ag do podslizniční vrstvy – pro zpracování dendritickými bb.



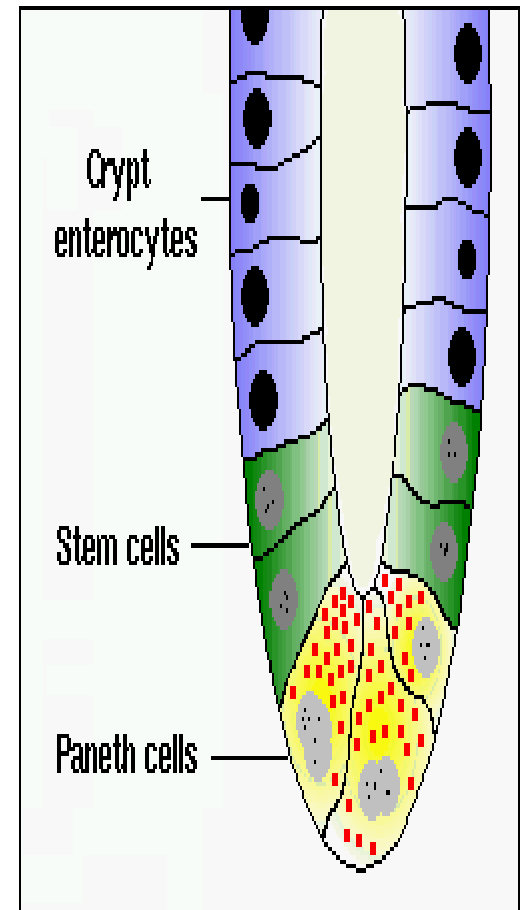
# Pohárkové buňky (Goblet cells)

- Vytváří ve velkém množství muciny - hydratované gely skládající se z různých glykoproteinů.
- Funkce mucinů: lubrikace a ochrana střevních klků.
- Interakce s lysozymem a sekrečními imunoglobuliny.
- Hlen chrání epitelové buňky před přichycením mikroorganismů.



# Panethovy buňky

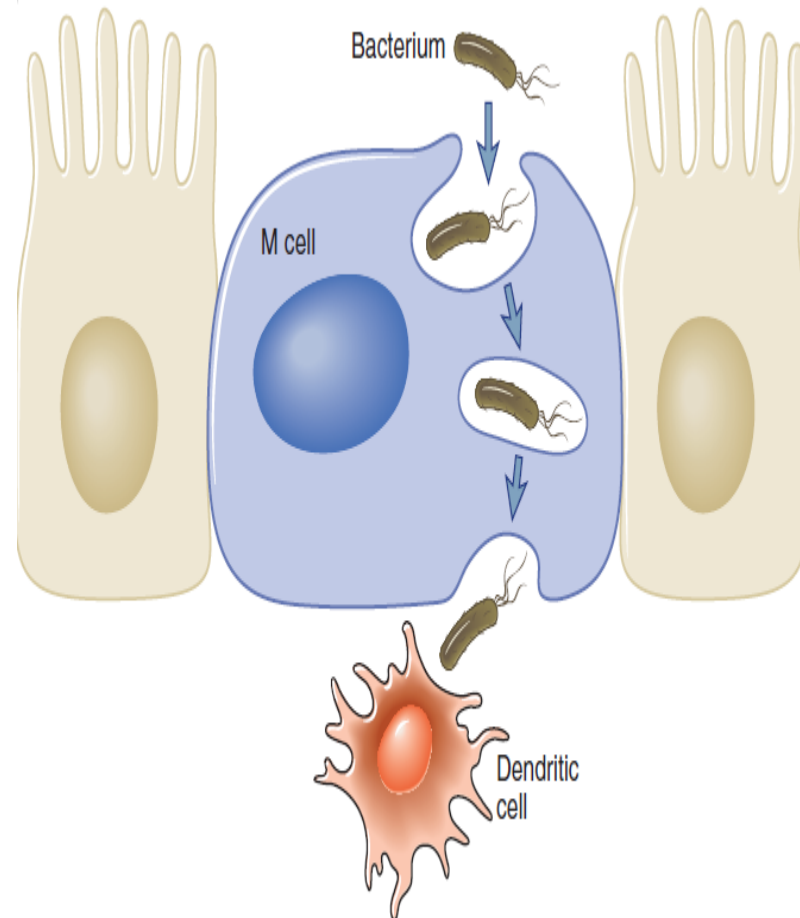
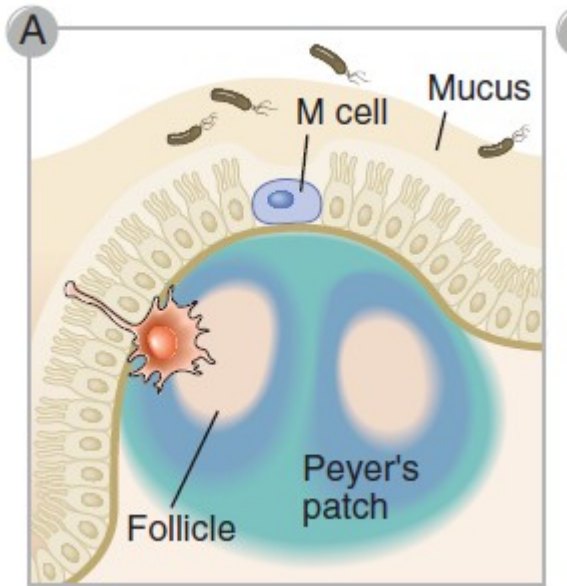
- Sekreční epitelové buňky
- Produkce lysozymu, fosfolipázy A
- Produkce defenzínů – vazba na mikrobiální membrány s velkým obsahem záporně nabitých fosfolipidů a působí mikrobicidně (*Listeria*, *Esherichia*, *Salmonella*, *Candida Albicans*)
- Lokalizovány v blízkosti proliferaujících kmenových buněk, které chrání před mikrobiálním poškozením.



# M - buňky v epitelu kryjícím lymfatické folikuly

- Epitelové buňky s nízkým nebo chybějícím kartáčkovým lemem, minimální glykokaalýx, bez lysozomálních struktur, basolaterálně výběžky
- Funkce: transport antigenů do lymfatického folikulu
- Počet: 1/100 - 1/1000 konvenčních enterocytů

# Epiteliální M buňky – transport Ag přes slizniční povrch



# M-buňky

- M-buňky lokalizovány v tenkém střevě, v oblasti zvané Peyeroovy plaky.
- Před M- buňky prostupují, makromolekuly částice, mikroorganismy.
- Pod nimi se nachází lymfoidní folikul tvořený velkými lymfocyty a APC.
- Dále velký počet paměťových B-lymfocytů stimulovaných Ag.

# GALT Effector Cells

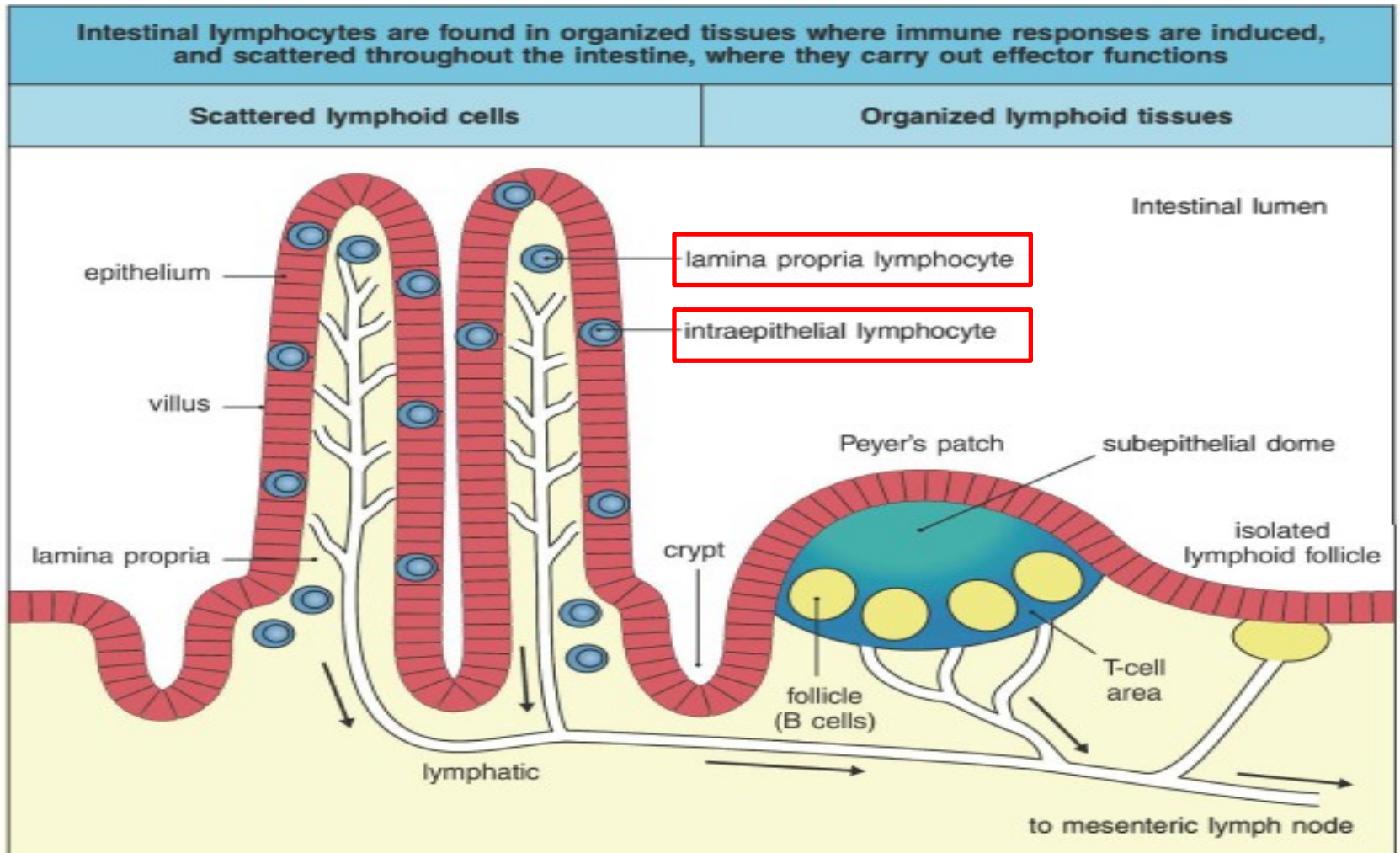
## Lamina Propria Cells

- T lymfocyty (CD4+ >> CD8+)
- Immunoglobulin A (IgA) sekretující plasmatické buňky
- Aktivované B lymfocyty
- Makrofágy
- Dendritické buňky (DCs)
- Innate lymphoid cells (ILCs)

## Intraepithelial Cells

- Funkce založená na distribuci T-lymfocytů podél délky střevního traktu
- Mají aktivovaný paměťový charakter
- Většinu tvoří CD8 $\alpha\alpha$  + a TCR $\gamma\delta$  + T lymfocyty

# Střevní lymfocyty



# Intraepiteliální T lymfocyty

- Lokalizovány zejména v klcích tenkého střeva
- Tc lymfocyty (CD3+8+), působí cytotoxicky – granzym nebo vazbou přes Fas-FasL na infikované nebo nádorově změněné epiteliální bb.
- 75% exprimuje receptor  $\alpha\beta$  oligoklonálního charakteru
- Regulace nežádoucích reakcí proti potravinovým Ag
- 25% exprimuje receptor  $\gamma\delta$  – sekrece cytokinů důležitých při hojení epitelii



# Lymfoidní folikuly

- Organizovaný lymfoidní systém
- V epiteliální vrstvě sliznic nebo těsně pod touto vrstvou.
- Peyerovy plaky – tvořeny více než 100 folikulů s centrální zónou složenou z lymfocytů B a menším počtem lymfocytů T.
- Uprostřed jsou folikulární dendritické buňky, dendritické buňky a makrofágy.
- V interfolikulární oblasti se nacházejí venuly s vysokým epitelem – exprese adhezivních molekul – zachycení lymfocytů z oběhu.

# Venuly s vysokým endotelem

## *(High endothelial venules)*

- Specializované venuly, místem kde lymfocyty pronikají z krevního oběhu do stromatu lymfatických uzlin nebo do slizničního imunitního systému.
- Jsou na nich adhezivní molekuly umožňující vazbu zejména „naivních“ (panenských) T-lymfocytů.

# „Homing“ lymfocytů

- Řízená migrace a usazování se lymfocytů u určitých tkáních imunitního systému.
- Je závislá na expresi adhezivních molekul označovaných jako **homingové receptory** na lymfocytech.
- Na endoteliích cílových tkání jsou exprimovány příslušné ligandy pro tyto receptory, označované jako **adresiny**.

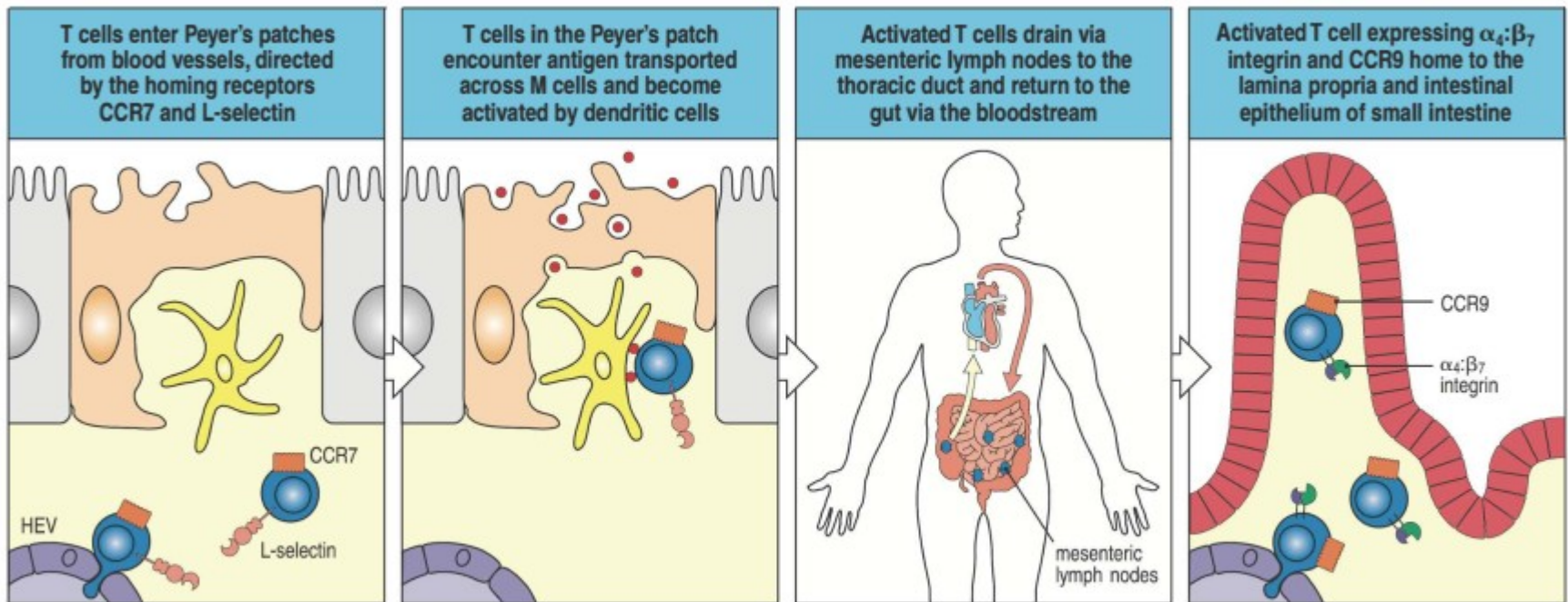
# Vznik tkáňových paměťových T-lymfocytů v závislosti na mukózních strukturách

- Při prvním setkání s patogenem v mukóze střeva dendritické buňky zpracují a vnesou antigen do lymfatických uzlin, kde jej prezentují naivním T lymfocytům.
- V závislosti na anatomické poloze lymfatických uzlin jsou na expandované aktivované populaci T lymfocytů exprimovány receptory nutné pro usídlení v konkrétní tkáni.
- Tyto efektorové T buňky tkáňového původu přednostně opouštějí krev usazují se ve „svých“ periferních tkáních.
- Střevní lymfatické tkáně indukují expresi speciálních „homingových“ molekul“, které umožňují usazení efektorových T-lymfocytů „střevního“ původu.
- Analogický proces probíhá v plicích, v kůži a dalších jednotlivých mukózních lymfatických orgánech.
- Příklad názvu homingových molekul: VLA-1, very late antigen 1 ( $\alpha_1\beta_1$  integrin).

# Cesty T-lymfocytů

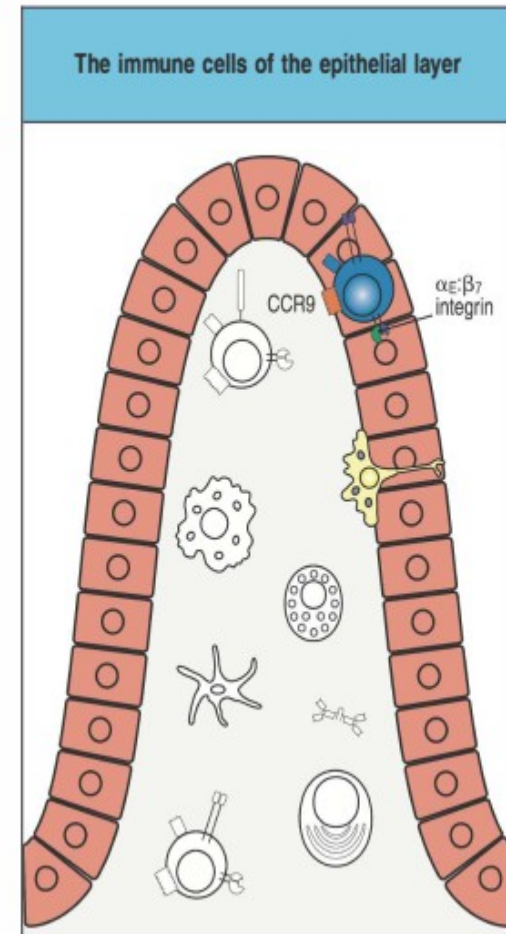
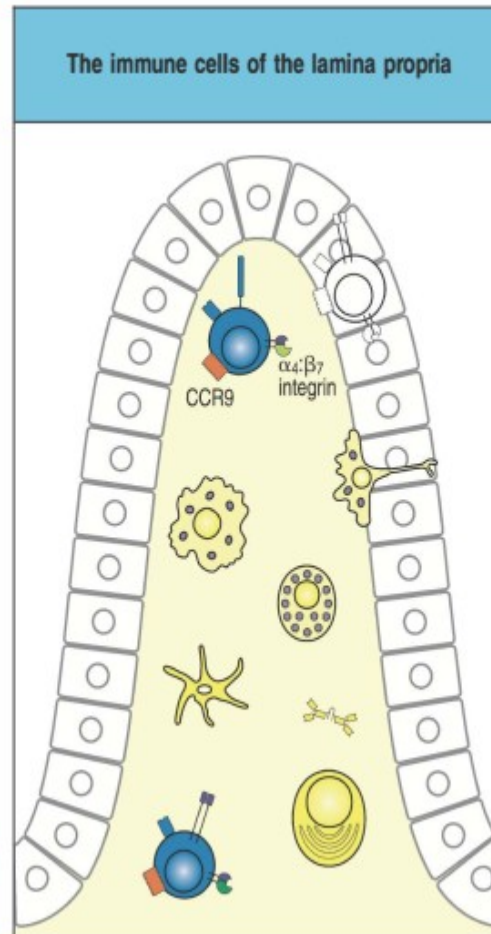
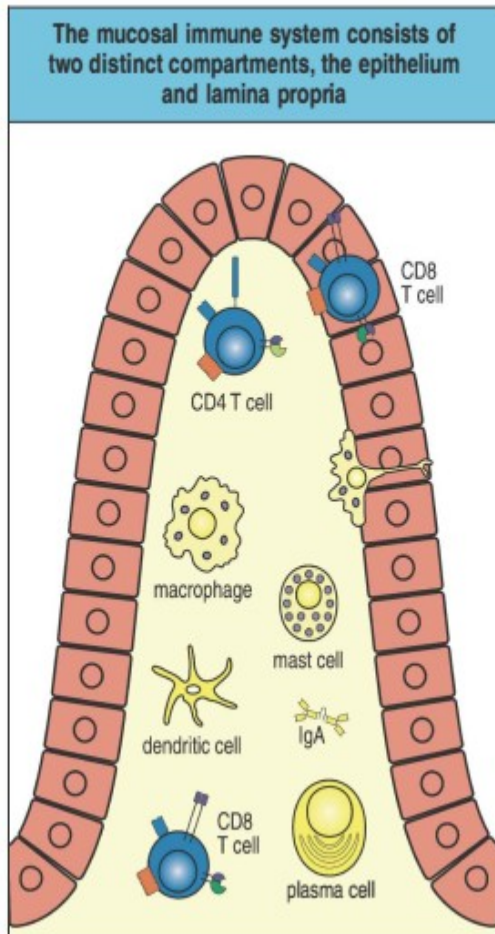
Po aktivaci naivního T-lymfocytu dochází ke změně povrchových molekul – selektinů a adresinů

Takto vzniklé efektorové a paměťové T-lymfocyty putují krevním řečištěm a vracejí se do GIT – usazují se v lamina propria – CD4+ T lymfocyty nebo jako intraepiteliální lymfocyty – CD8+



# Epiteliální T-lymfocyty a lamina propria

## T-lymfocyty



# Vznik $T_{RM}$

## (T lymphocyte tissue residual memory)

- Poté, co je patogen odstraněn z mukózy a došlo k i k ukončení zánětu, zůstávají populace buněk  $T_{RM}$  v tkáni.
- Tyto  $T_{RM}$  cells dále exprimují na svém povrchu tissue-homing molekuly, které jim umožňují uchycení v těchto periferních strukturách. Stávají se tkáňově usídlenými paměťovými buňkami, které jsou při druhém setkání s Ag schopny rychlé reakce.
- Současně vznikají cirkulující paměťové T-lymfocyty, které mohou vstupovat do lymfatických uzlin a také recirkulují mezi krví a tkáněmi.
- Produkovat tento typ buněk umí pouze některé naivní T-lymfocyty.

# Heterogenita T-lymfocytů v krvi i ve tkáních

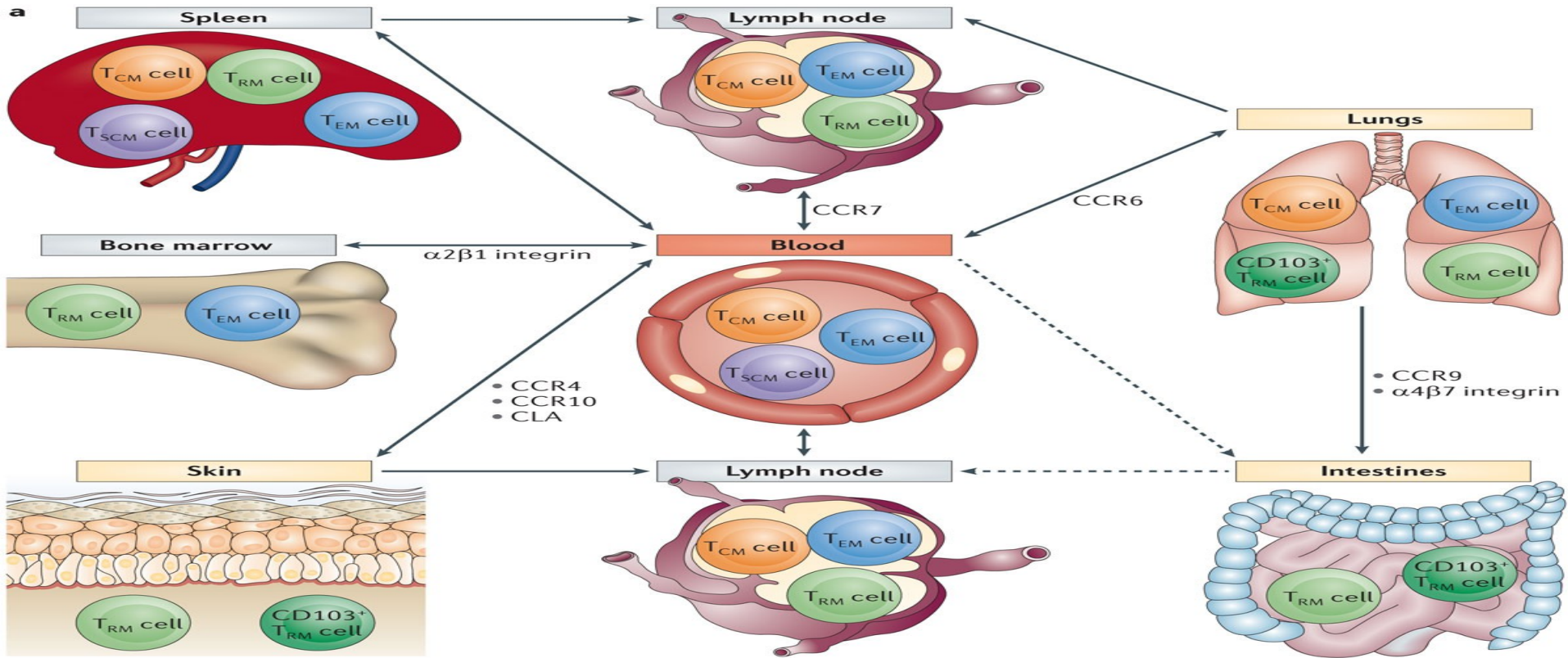
- Existuje několik druhů lidských paměťových T-lymfocytárních subsetů:
  - stem cell memory T ( $T_{SCM}$ ) cells
  - central memory T ( $T_{CM}$ ) cells
  - effector memory T ( $T_{EM}$ ) cells
  - tissue-resident memory T ( $T_{RM}$ ) cell population v závislosti na druhu tkání, zahrnuje také  $CD8^+ T_{RM}$  cells , které jsou definovány expresí CD103 ( $CD103^+ T_{RM}$  cells) a jejich výskyt je asociován s mukózou a kůží
- Cirkulující  $T_{SCM}$ ,  $T_{CM}$  and  $T_{EM}$  cell subsety migrují přes krev, slezinu, plíce a střevo. Také mohou putovat skrze lymfatické uzliny prostřednictvím lymfatických a eferentních žláz.
- $T_{RM}$  lymfocyty najdeme převážně v kůži, v plicích, v kostní dřeni, často bývají prezentovány mezi  $CD69^+ T_{EM}$  i ve slezině a lymfatických uzlinách
- Exprese chemokinových receptorů nebo integrinů určuje příslušnost ke tkáni, případně do kterých oblastí může T-lymfocyt migrovat:
- Lymfatická tkáň: CC-chemokine receptor 7 (CCR7)
- Kůže (CCR4, CCR10 a cutaneous lymphocyte antigen (CLA)),
- Střevo (CCR9 and  $\alpha 4\beta 7$  integrin)
- Plíce (CCR6)
- Kostní dřeň ( $\alpha 2\beta 1$  integrin).



# Heterogenita T-lymfocytů v krvi i ve tkáních

- Klíčové a funkční vlastnosti cirkulujících a reziduálních T lymfocytů: CD45RA and CCR7 rozlišují cirkulující paměťový T cell subset.
- CD69 (and CD103) exprese vymezují T<sub>RM</sub> rezidual memory lymfocyty.
- Paměťové T-lymfocyty mohou produkovat cytokiny jako jsou interleukin-2 (IL-2), interferon- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) and tumour necrosis factor (TNF), ale liší se v množství a kvalitě této odpovědi +, low expression levels; ++, medium expression levels; +++, high expression levels.

# Heterogenita T-lymfocytů v krvi i ve tkáních



**b**

	Circulating memory T cells			Tissue-resident memory T cells	
	T <sub>SCM</sub> cell	T <sub>CM</sub> cell	T <sub>EM</sub> cell	T <sub>RM</sub> cell	CD103 <sup>+</sup> T <sub>RM</sub> cell
CD45RA	+	-	-	-	-
CCR7	+	+	-	-	-
CD69	-	-	-	+	+
CD103	-	-	-	-	+
IL-2	+++	+++	++	+/-	+/-
IFN $\gamma$	+	++	+++	+++	+++
TNF	+	++	+++	+++	+++

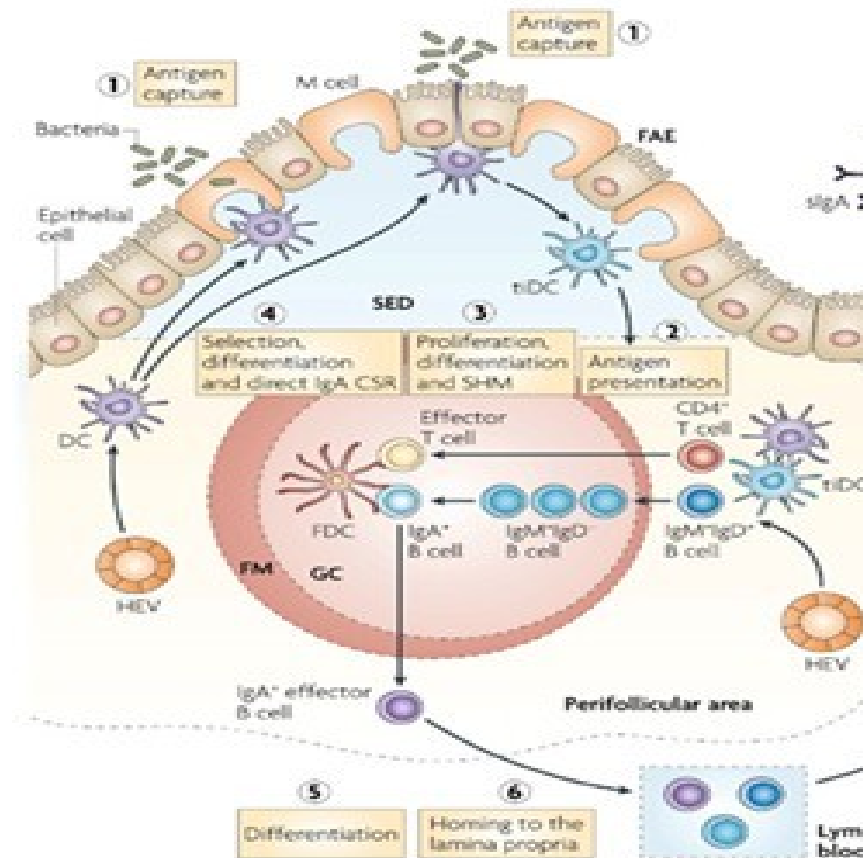
# Indukce imunitní odpovědi na střevní sliznici

- Mnoho folikuly jsou v lamina propria rozptýleny:
- CD4+T-lymfocyty, které sousedí s venulemi tvořenými vysokým endotelem.
- Fibroblasty – podílejí se na diferenciaci epitel. Buněk.
- Makrofágy a dendritické buňky – zdroj cytokinů
- Den. bb. nejsou plně vyztřálé, po stimulaci dozřívání a přenos Ag do příslušných lymfatických uzlin

# Dendritické buňky sliznic

- Rozdělení do dvou subsetů DC-1 a DC-2
- DC-1 -stimulace infekčním Ag ve vysoké koncentraci – aktivace T-lymfocytů do Th1 (IFN- $\gamma$  a cytotoxické mechanismy)
- DC-2 –stimulace nízkými dávkami Ag – za fyziologických podmínek – aktivace lymfocytů do Th2 (IL-2,4 a 13 ) a Tr – produkce cytokinů IL-10 a TGF $\beta$
- Výsledek aktivace B-lymfocytů k produkci IgA

# Aktivace B-lymfocytů v GALT

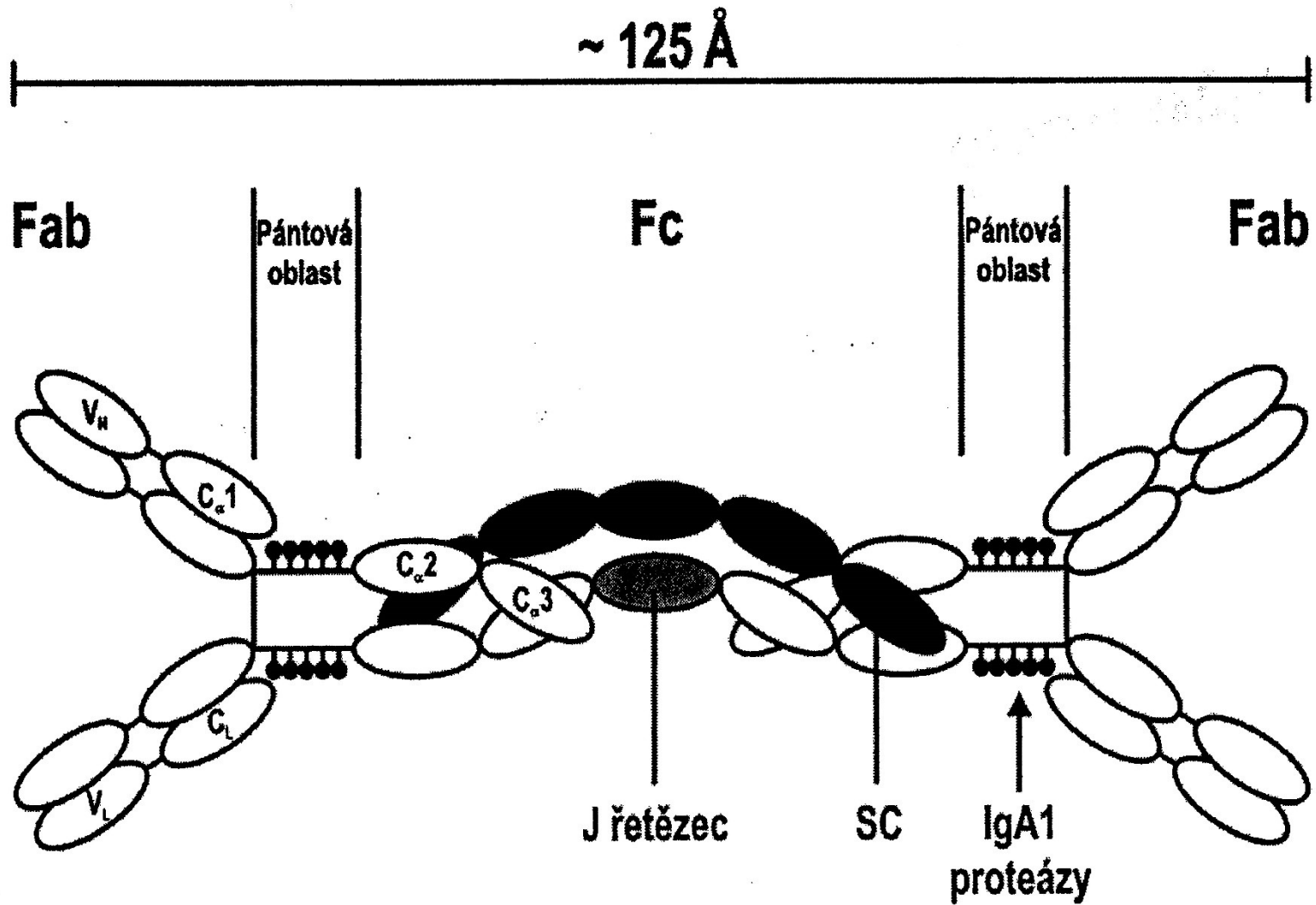


Reprinted from Nature Reviews Immunology Volume 8, Cerutti, A. The regulation of IgA class switching, p421-434

# Humorální mechanismy slizničního imunitního systému – role IgA

- Produkován B-lymfocyty a plazmatickými buňkami v submukózních vrstvách.
- Transport přes epteliální buňku na slizniční povrch – **transcytóza**.
- Váže se na transportní Fc-receptor → endocytóza a přenesení na luminární stranu buňky, tam fúzuje s membránou a část receptorové molekuly ( tzv. sekreční komponenta) spolu s navázaným IgA se odštěpí.
- Přenos IgA do mateřského mléka a do zažívacího traktu novorozence.

# Struktura molekuly sekrečního IgA

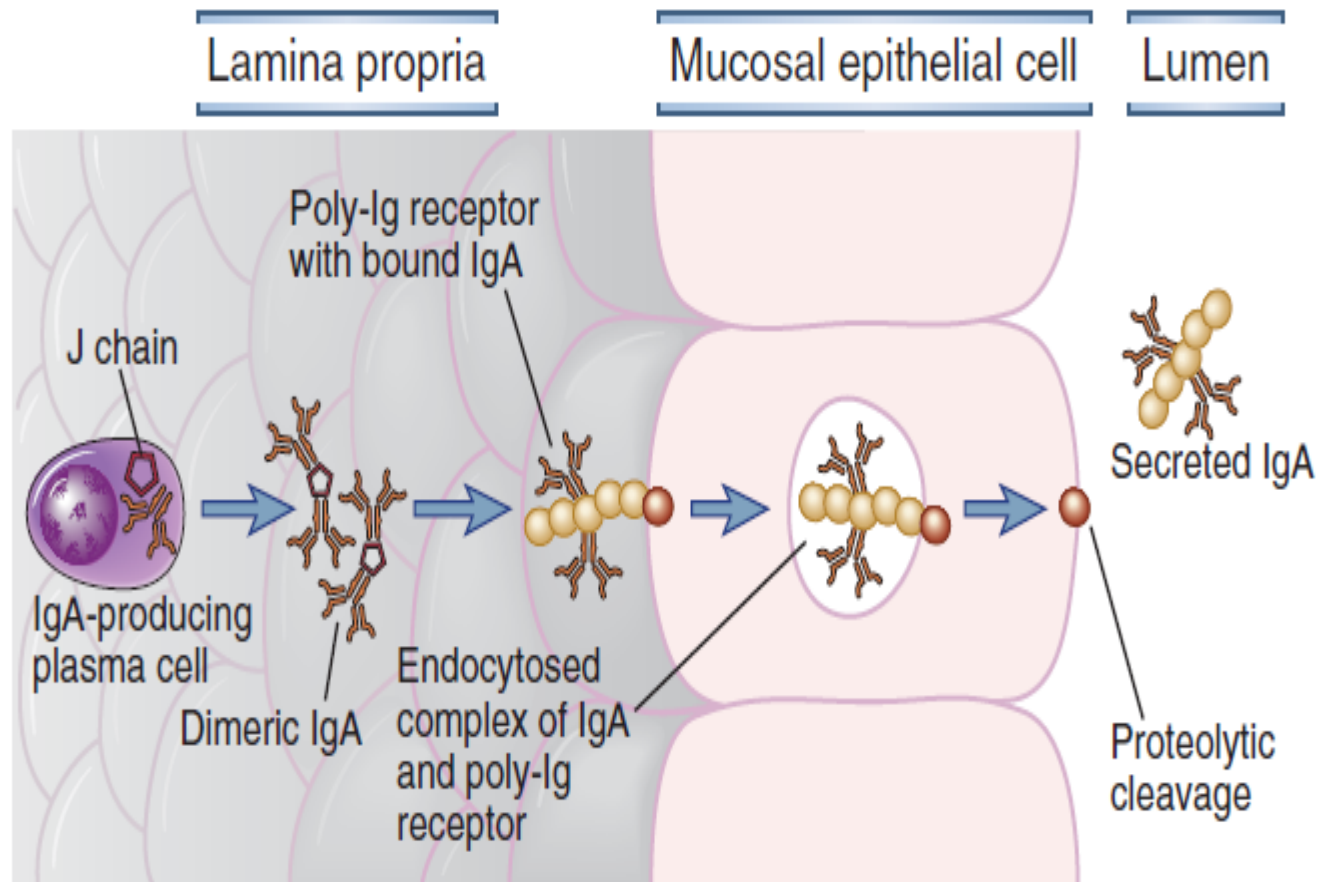


# Vlastnosti a funkce sekrečního IgA

- **Produkováno v největším množství -3-5g denně**
- Odolnost vůči proteolytickým enzymům
- Neutralizace toxinů, virů a enzymů
- Inhibice adherence mikroorganismů k epitelům
- Zábрана průniku antigenu a mikrobů
- Oponizační efekt
- Protilátkami mediovaná cytotoxicita
- Intracelulární neutralizace virů v epitelových buňkách při transportu slgA (fúze vesiklů obsahujících slgA s endosomy obsahujícími antigen)
- Protizánětlivá aktivita kompetitivní vazbou na antigen (blokace IgG a IgE mediovaných reakcí)



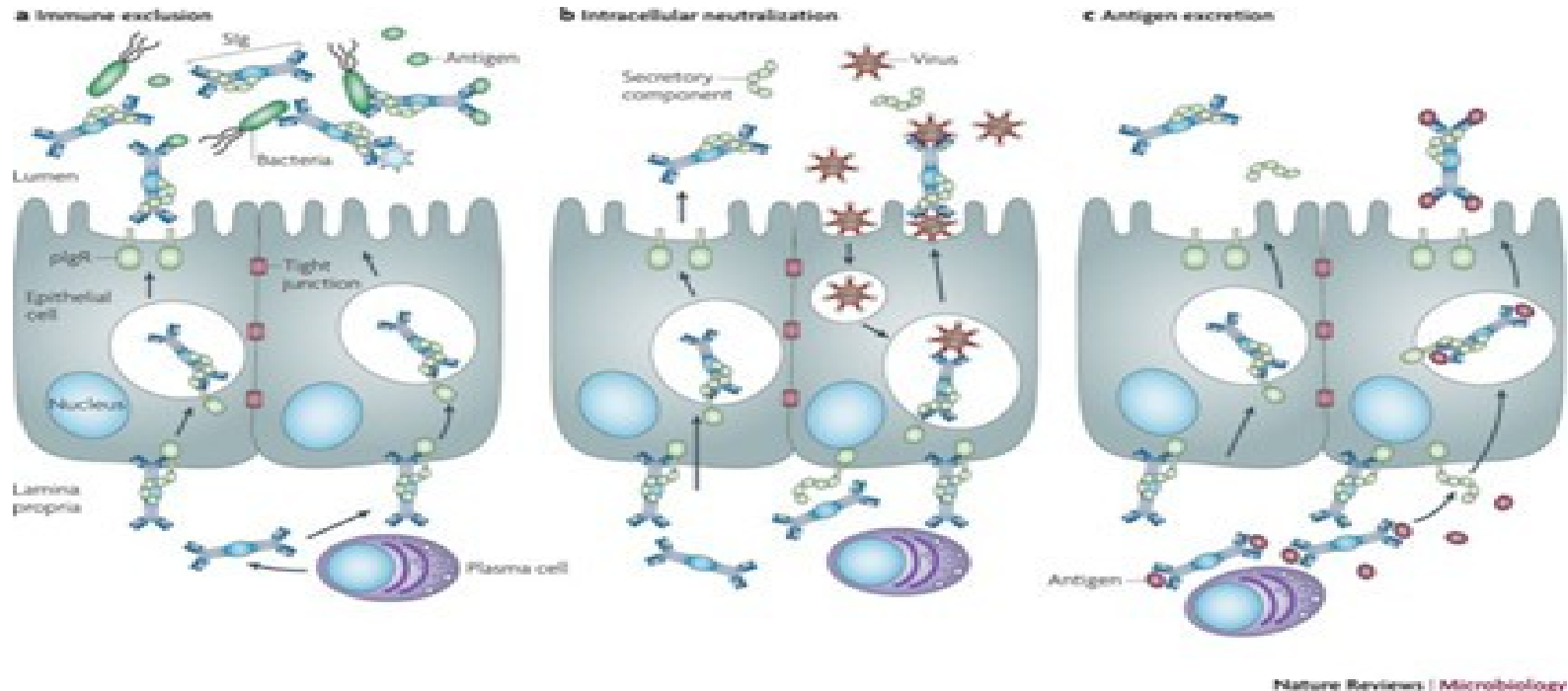
# Transcytózsa



# Sekreční imunoglobuliny

- IgA – největší strukturní heterogenita
- Monomer, polymer a sekreční
- V zažívacím traktu IgA2, v dýchacích cestách IgA1
- U sekrečních výhodou polyvalence – 4 -8 vazebných míst pro Ag – vysoká avidita x nízká afinita
- Kromě IgA také IgM
- Význam v raném dětství a u selektivního deficitu IgA
- Náchylnější k proteolytickému rozkladu v lumen střeva

# Funkce IgA



- Zahrnuje komenzální bakterie do hlenové vrstvy střevního lumenu
  - Váže invazivní patogeny
  - Neutralizuje mikrobiální toxiny a další prozánětlivé mikrobiální produkty
  - Neutralizuje antigeny a patogeny v endosomech epitelálních buněk
- Figure reprinted from Nature Reviews Microbiology. Strungell, RA and Wijburg, ODL, The role of secretory antibodies in infection immunity, Figure 3. 8: 656-67. Copyright 2010 with permission from Nature Publishing Group.

# Selektivní deficit IgA

- Většinou pacient netrpí těžkými projevy imunodeficitu
- Kompenzováno dalšími protilátkovými izotypy: intestinální sIgM a se váže na pIgR ( polymerický imunoglobulinový receptor) pro přemístění do intestinálního lumenu
- Avšak IgA deficit může ovlivnit vývoj autoimunitního a alergického onemocnění, protože
  - limituje přirozenou imunitní odpověď
  - moduluje střevní regulační T buňky
  - reguluje komensální mikroflóru

# Termín mikrobiom

- 2001 Joshua Lederberg používá tento termín k popsání mikrobiální komunity asociované s lidským tělem.
- Lidský mikrobiom= všechny geny, které obsahuje lidská mikrobiota

# Mikrobiom x mikrobiota

- Pokud tedy mluvíme o lidské **mikrobiotě**, mluvíme na úrovni **organismů**.
- Pokud mluvíme o lidském **mikrobiomu**, mluvíme na úrovni **genů**.

# Mikrobiota

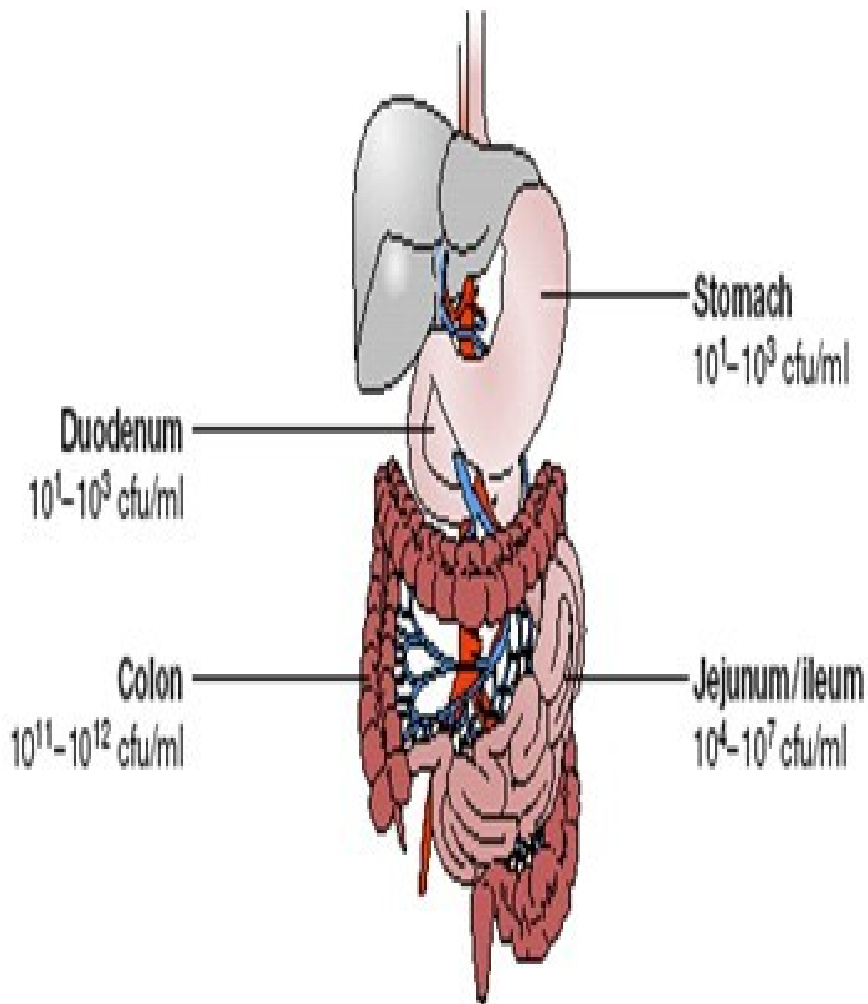
- Biota = soubor organismů na daném místě v daném okamžiku.
- Microorganismy tvoří kolem 1 - 3% váhy člověka, (což je 0,9 kg – 2,7kg bakterií u 90 kg muže).
- Jsou na každém epitelu našeho těla.

# Lidský mikrobiom

- jsme “super-organismy”
- Lidský gastrointestinální trakt je obsazen obrovským mikrobiomem – >1000 rozličných druhů >většinu z nich nelze kultivovat.
- Zakládá se během 1. týdne života a stabilizuje se během 3-5 roku života jedince.
- Mikrobiom je výsledkem evolučního procesu, vede k homeostáze organismu a je výhodný pro obě zúčastněné strany.

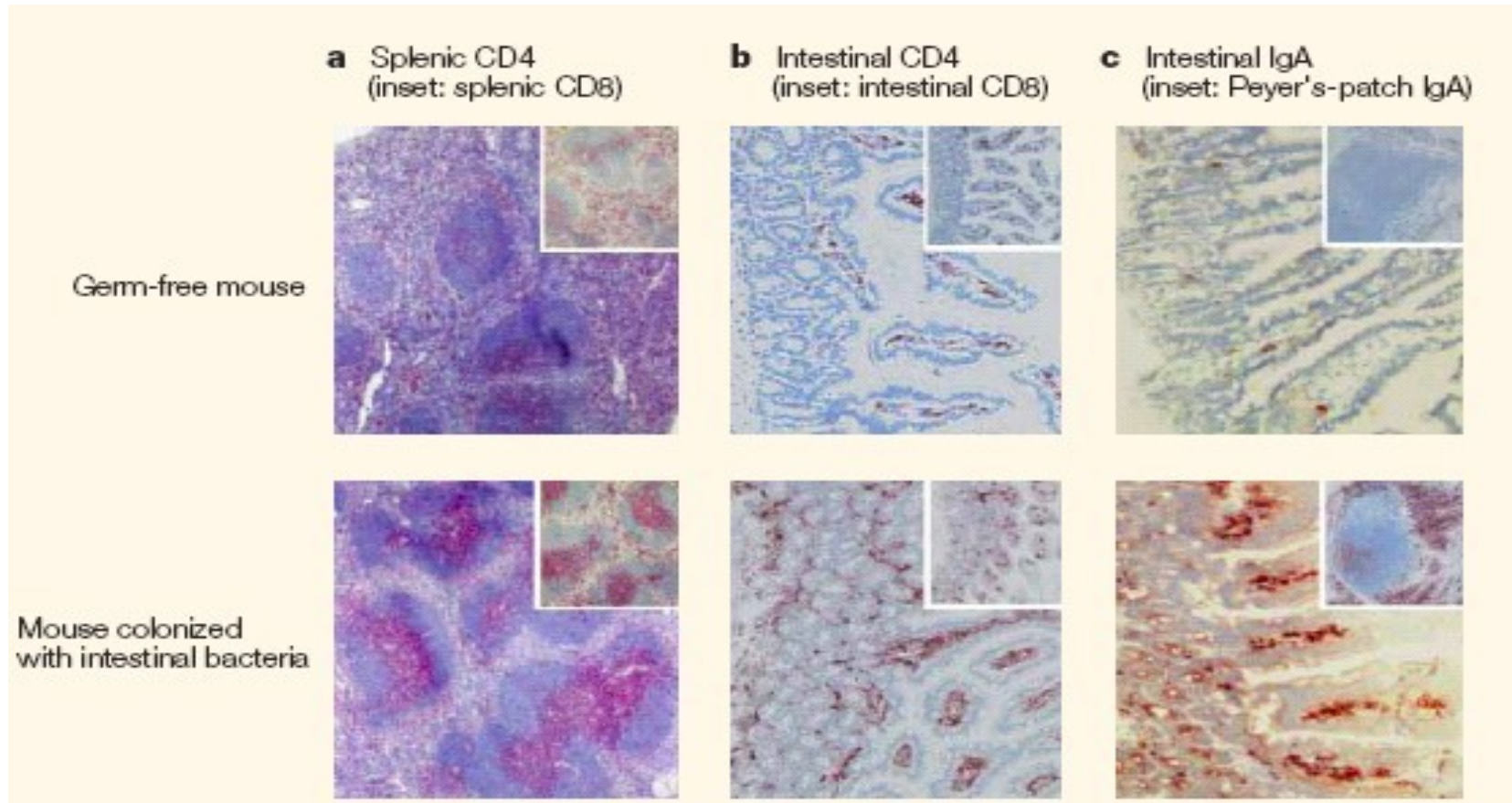


# Lidský mikrobiom



- Bacteria (~1000druhů)
- Firmicutes (Ruminococcus, Clostridium, Eubacteria)
- Bacteroidetes (Bacteroides)
- Actinobacteria (Bifidobacteria)
- Proteobacteria (Enterobacteraceae)
- Fusobacteria
- Viruses
- Fungi

# Vývoj imunitních tkání vyžaduje kolonizaci bakteriemi



Reprinted from Nature Review Immunology Volume 4, Macpherson, AJ and Harris, NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system, p478-485, Figure 2. Copyright (2004) with permission from Nature Publishing Group.

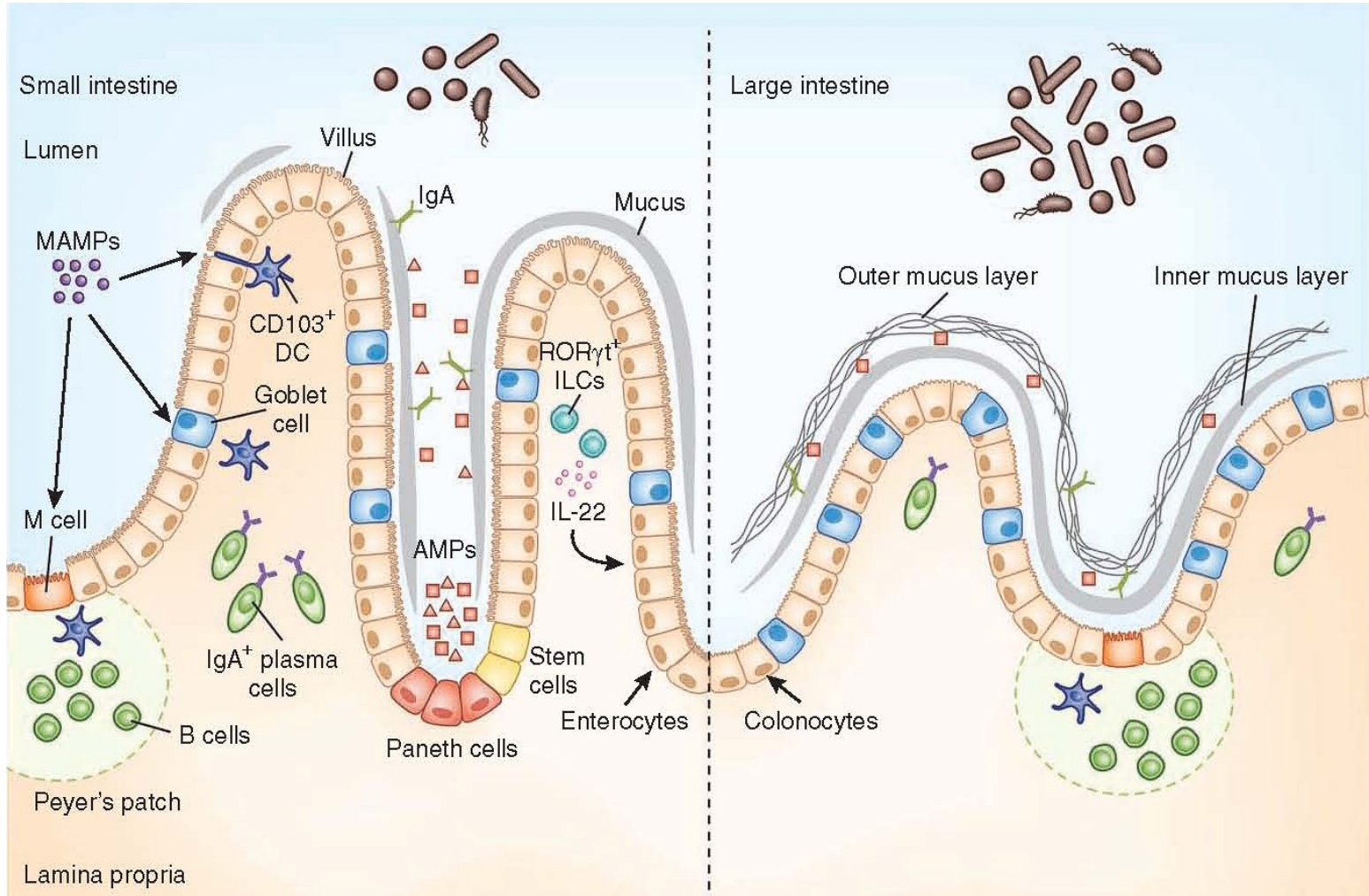
# Přirozená obrana epitelových buněk

- Hlenová vrstva je nezbytnou složkou vrozeného imunitního systému, který segreguje mikrobiom od intestinálního epitelu.
- Specializované epiteliální buňky nazývané pohárové buňky vylučují mucinové glykoproteiny (hlen).
- Tloušťka vrstvy vnitřní sliznice je důležitým fyziologickým rysem a má úlohu v náchylnosti k patogenem indukovanému a zánětu vyvolaném zvýšeným výskytem některého typu komensálních bakterií.
- Vnější vrstva sliznice hraje roli při tvarování mikrobiální sliznice zdroj glykanu- jako zdroj živin.
- Hustota vnitřní vrstvy také omezuje přímý kontakt těchto bakterií s epiteliálními buňkami.
- Hlenovitá vrstva v tenkém střevě postrádá zřetelné vnitřní a vnější vrstvy a je diskontinuálně sekretována podél vnější plochy.
- V důsledku toho vzniká velký povrch pro působení antimikrobiálních peptidů: hrají důležitou úlohu při odstraňování patogenů z epitelu.
- Panethovy buňky jsou nezbytné pro styk s mikroflórou a ztráta těchto buněk vede ke zvýšené invazi epiteliální bariéry patogenními a symbiotickými mikroby.

# Epitelové bariérové funkce

- Je nesmírně důležité, aby byl mikrobiom dostatečně oddělen od zárodečných epiteliálních buněk hostitele ((Innate Epitelilal Cells (IEC)), minimalizace pravděpodobnosti poškození tkání a invaze některých mikroorganismů mikrobioty.
- Oddělení zajišťuje hlenová vrstva, antimikrobiální peptidy (AMP) a vrozené lymfoidní buňky (ILC), které fungují inhibičně – podílí se na omezování přerůstání mikrobiomu na lumenu střevního traktu.
- Používané strategie se liší v tlustém střevě a tenkém střevě, ale nakonec jsou podporovány vzájemné interakce a dochází k „anatomickému udržování mikrobiální flóry“.

# Innate Epithelial Barrier Defense



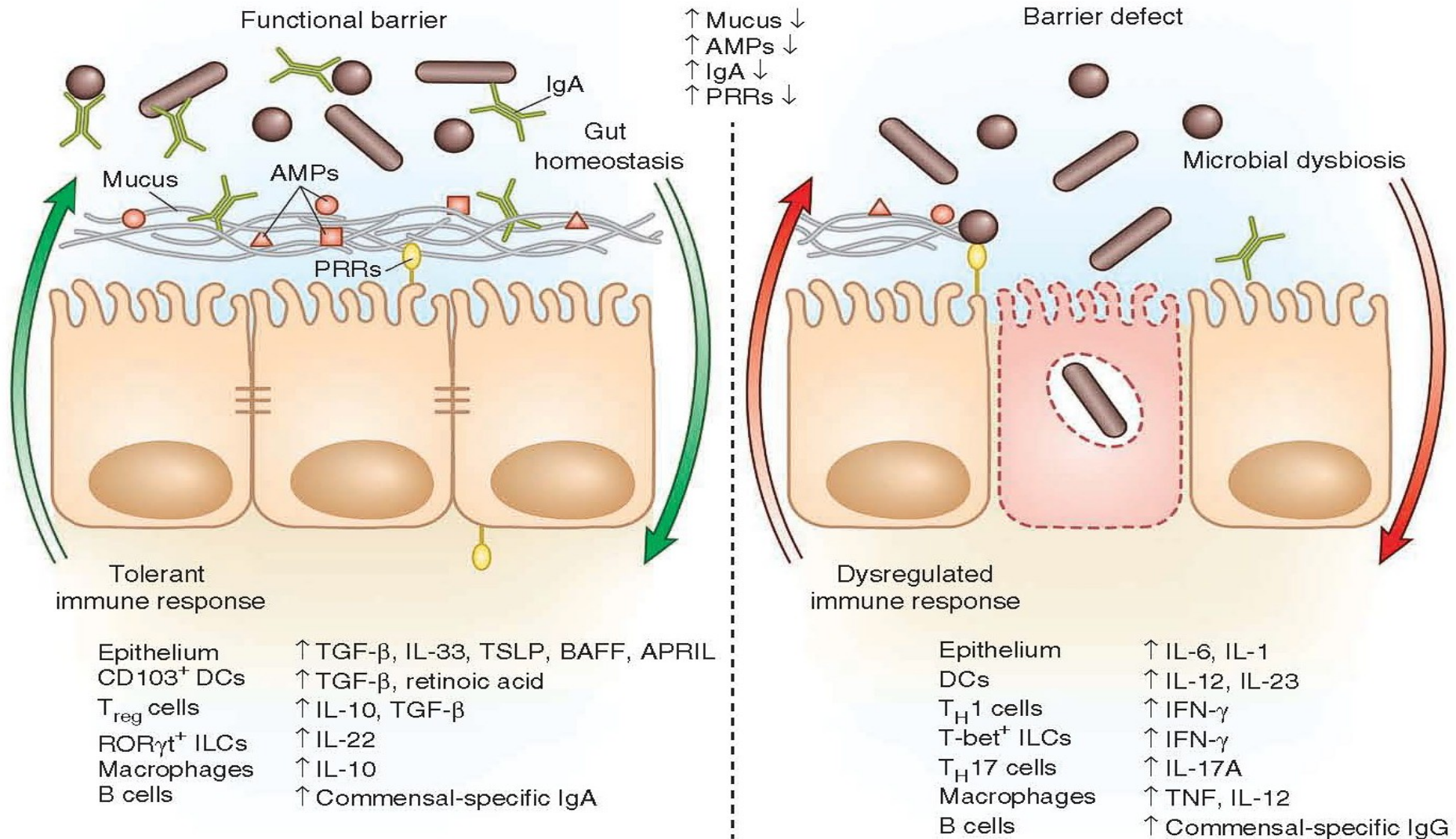
# GIT mukóza vyvažuje imunitní reakci na svou mikroflóru

- Komensální nepatogenní a patogenní střevní mikrobiální druhy jsou rozpoznávány pattern recognition receptory - TLR, NOD
- Na tlumení zánětlivých reakcí proti kompenzační flóře se podílí několik mechanismů:
  - Rozdílné hladiny a distribuce v TLR v epiteliálních buňkách
  - NOD2 ovlivnění a TLR signalizace (Mutace v NOD2 se mohou podílet na IBD)
  - Zachycení luminální flóry a obrany proti mikrobiální translokaci
  - Produkce mucinu
  - Komensální bakterie zprostředkovávají inhibici signalizace NF- $\kappa$ B (pravděpodobně prostřednictvím rozpustných mediátorů uvolňovaných bakteriemi]
  - Inhibice of přirozené a adaptivní imunitní odpovědi prostřednictvím TSLP (thymic stromal lymphopoietin), který je produkován enterocyty
  - Regulační T lymfocyty
  - Tolerogenní dendritické buňky

# Fungování mikrobiální bariéry

- Přirozené bariéry zajišťují tolerantní odpověď na mikrobiotu.
- Přítomnost funkční bariéry, s normálním množstvím PRR, hlenem, antimikrobiálními peptidy a sekretovaným IgA, podporuje endoteliální homeostázu s mikrobiotou.
- Mikrobiota je oddělena od intraepiteliálních buněk
- střevní imunitní systém směřuje do značné míry tolerantní odpovědi na mikrobiotu.
- PAMP stimulují epiteliální sekreci IL-33, TGF- $\beta$ , TSLP, BAFF a APRIL, které všechny podporují vývoj odpovědí na tolerogenní buňněčné imunitní odpovědi na mikrobiotu.
- Toto prostředí cytokinu obohacuje dendritické buňky (DCs) CD103+, které podporují vývoj Treg buněk sekretujících IL-10 a TGF- $\beta$ .

# Innate Immune Barriers





# Správná funkce střevní sliznice

- Střevní sliznice hraje významnou úlohu v navození správné funkce imunitního systému střevní sliznice (např. metabolické produkty jsou využívány pro tvorbu mukózy, produkují vitamíny...).
- Projevem správné funkce je mimo jiné navození tzv. orální tolerance (nereaktivnost střevní a systémové (celotělové) imunity na imunogenní složky potravy).
- Narušením rovnováhy mezi imunitní reakcí a imunitní tolerancí dochází k rozvoji řady onemocnění infekčních, alergických a autoimunitních.

# Mikrobiota – podíl na homeostáze

- Svou pouhou přítomností tyto bakterie zabraňují „škodlivým“ mikrobům, aby se zde usadili.
- Produkuje anti-mikrobiální protilátky které chrání člověka proti patogenům.

# Fungování mikrobiální bariery

- Toto prostředí cytokinu obohacuje dendritické buňky (DCs) CD103 +, které podporují vývoj Treg buněk sekretujících IL-10 a TGF- $\beta$ .
- Treg buňky a CD103 + DC stimulují tvorbu specifického IgA pro komenzální mikroorganismy
- Bariérová celistvost IEC je vylepšena vylučováním IL-22 pomocí ILC v tomto prostředí.
- U imunodeficitních nebo zánětlivých syndromů s vrozenými poruchami (např. IBD, CVID nebo infekce HIV) střevní imunitní systém směřuje k potenciálně škodlivé prozánětlivé odpovědi na mikrobiální organismus, aby došlo k vymizení invazivních bakterií a dysbiózy.
- V tomto prostředí může střevní nebo plicní epitel vylučovat IL-1 a IL-6 v reakci na signály nebezpečí.
- Sekrece IL-12 a IL-23 pomocí DC a makrofágů podporuje odpověď Th1 a Th17.
- Tyto T pomocné lymfocyty vylučují vysoké hladiny IFN- $\gamma$  a IL-17A, ILC se také akumuluje a produkuje IFN- $\gamma$ .
- Porušení epiteliální bariéry mikroflórou v této situaci může také vést k vyšším hladinám B-buněk, které sekretují kompenzačně specifický IgG.

# Microbiota a Homeostáza

- Intestinální mikrobiom je stále více uznáván pro svou roli při regulaci homeostázy imunitních buněk.
- Jsou známy signály z intestinálních bakterií při primární systémové imunitní odpovědi a pro regulaci prozánětlivých a protizánětlivých hostitelských imunitních odpovědí
- Ty zahrnují regulační buňky T (Tregs) a T helper 17 (Th17) buňky
- Tato propojení mezi střevními tkáněmi a mikrobiálními látkami jsou citlivá a mohou být snadno narušena
- V důsledku narušení se může vytvářet zánět a sepse.

# Regulace imunity a mikrobiomu

- Lidské střevo je kolonizován mikroflórou v raném kojeneckém věku.
- Je známo, že bakterie ve střevě mají mnoho prospěšných funkcí a hrají klíčovou roli při vývoji imunitního systému a ochraně proti patogenům.
- Při narození jsou střeva sterilní a během porodu se kolonizují prvními bakteriemi z porodních cest + fekální mikroflóra
- Kojení – 90% bifidobakterie
- Umělá mléčná strava – pestré spektrum
- Přejít na pevnou stravu – dosažení „dospělého“ typu mikroflóry mezi rokem života
- Kvalita střevní mikroflóry závisí na porodu x císařský řez a termínu porodu – včasný x předčasný, dále kojení x pevná strava
  - Léčba antibiotiky, stres

# Regulace imunity a mikrobiomu

- V dalším vývoji je mikrobiální obsah střeva určen prostředím, ve kterém dítě vyrůstá a je také závislé na genetických faktorech.
- V prvním roce života je strava pravděpodobně největším ekologickým faktorem střevní mikroflóry
- Významné rozdíly byly zaznamenány také v mikrobiální kompozici dospělého lidského střeva v kulturách s prototypickou západní stravou, o níž je známo, že má nízký obsah vlákniny (převládající bakterie rodu Firmicutes) a nízký obsah rodu Bacteroidetes, častější v potravinách s vysokým obsahem vlákniny typicky zvýšený u obyvatel v rozvojových zemích.
- Složení mikrobiomu je specifické pro hostitele, dynamicky se mění a je citlivé na dietní vlivy, zejména v dětství.
- Velké změny ve složení mikrobiomu mohou vést k nerovnováze v mezi mikrobiomem a střevním IS, což je stav známý jako dysbióza.

# Mikrobiota a zvýšená vnímavost k některým chorobám

- Změněná střevní mikroflóra byla již dlouho spojena se zánětlivými poruchami GI traktu, včetně zánětlivého střevního onemocnění (IBD).
- Stejně tak byla řada systémových onemocnění, jako je diabetes a revmatoidní artritida, spojena se změnou intestinální mikrobiální tkáně.
- Složení střevní mikroflóry může ovlivnit vývoj těchto onemocnění v důsledku tzv. mikrobiální translokace - migrace mikrobiálních produktů přes mukózní bariéru.
- Bakteriální translokace se účastnila systémové patofyziologie onemocnění, jako je diabetes typu II, systémové zánětlivé odpovědi a ateroskleróza.
- Změny poměru zánětlivých na supresivní buňky ve střevě mohou ohrozit integritu střevního sliznice a způsobit "únik" mikrobiálních produktů do oběhu

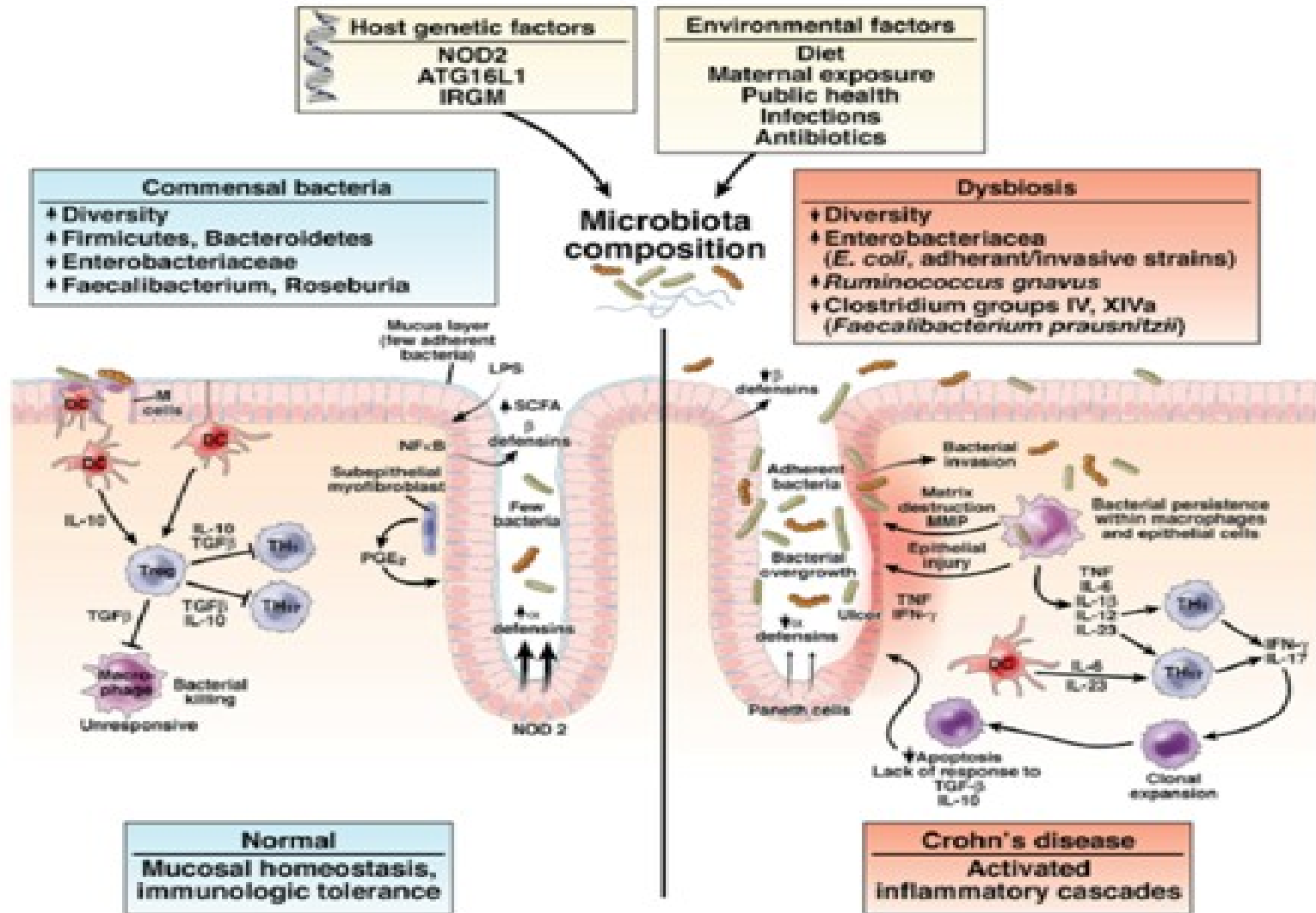
# Dysbióza

## nerovnovážná střevní bakteriální mikroflóra

- změna ze zdravé rovnováhy nebo odchýlení od základní linie
- v kombinaci s dalšími environmentálními a genetickými vlivy pravděpodobně přispívá k rozvoji střevních a systémových onemocnění
  - IBD – nespecifické střevní záněty
  - Diabetes
  - Metabolický syndrom and obesita
  - Potravinová alergie



# Dysbiosis and IBD



Reprinted from Gastroenterology Volume 139, B. Sartor, Genetics and Environmental Interactions Shape the Intestinal Microbiome to Promote Inflammatory Bowel Disease Versus Mucosal Homeostasis, pages 1816-1819, Figure 1. Copyright (2010) with permission from the author and Elsevier.

# Orální tolerance je předpokladem k zachování homeostázy střeva

- Imunitní odpověď musí předcházet poškození tkání = klíčem k zachování imunitní homeostázy je, kde a kdy a jak
- Střevo studováno s ohledem integritu tkání které ovlivňují buňky tvořící buněčné sítě a cesty, které pak hlídají a regulují zánět.
- v klidovém stavu: Treg a TH17 buňky = nejhojnějšími buňkami z CD4 T lymfocytů.
- Rovnováha mezi těmito dvěma CD4+ efektorovými podskupinami je rozhodující pro výsledek imunitní odpovědi sliznice

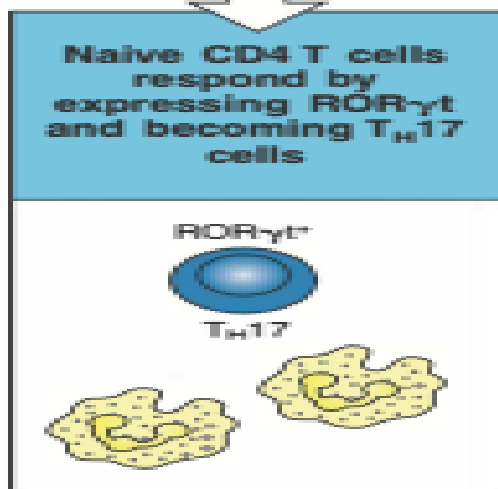
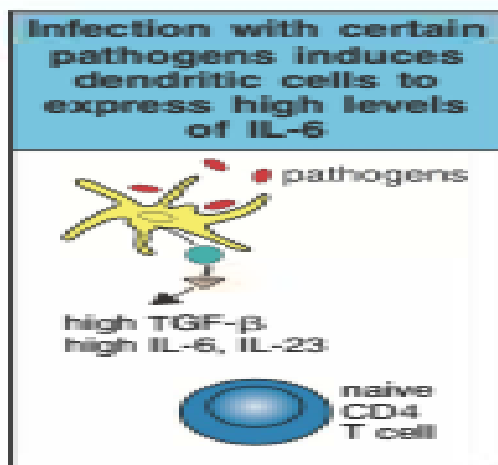
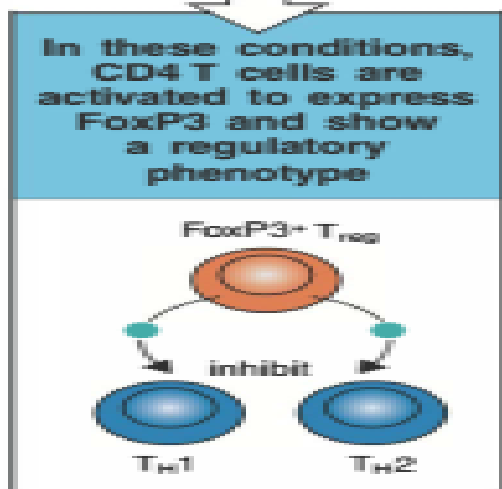
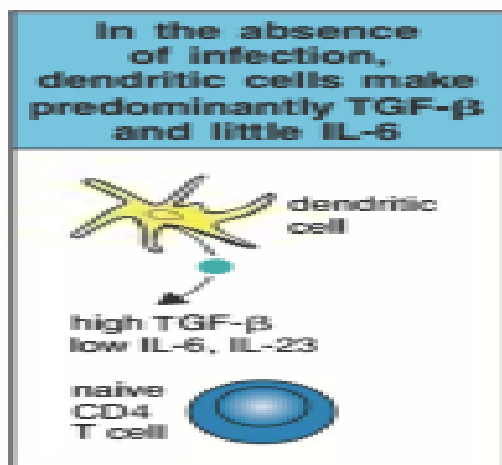
# Orální tolerance

- Indukce slizniční a systémové nereagující na dietní antigeny
- Aktivní imunitní odpověď závisí na tom
  - tolerogenní dendritické buňky (tvoří IL-10),
  - regulační buňky Treg CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> (tvoří TGFβ a IL-10)
- Mechanizmy tolerance:
  - ignorance (signály bez / nízké kostimulace)
  - inhibice / anergie (inhibiční signály)

# Příjem potravinových antigenů nastává skrze

- Transcytózou přes M buňky,
- Paracelulární difúze nebo transcytóza přes intestinální vilové EC,
- Příjem exosomů (kompartmenty MHC třídy II fúzované s endozomy) lamina propria DC
- Luminální zachycení přes CXCR31<sup>high</sup> DC/macrophages.

# Navození tolerance



Na začátku infekce nejsou dendritické bb. plně aktivovány, záleží na koncentraci IL-6. Při nízké koncentraci IL-6 vznikají regulační T-lymfocyty, které inhibují Th1, Th2 odpověď.

# GIT a mikrobiom shrnutí 1

- Cílem imunitního systému GIT je rozpoznat a udržet zdravý mikrobiologický organismus a současně rozpoznat a vylučovat mikroby, které způsobují onemocnění.
- Imunitní funkce GIT pochází z imunitních buněk a jejich interakcí v lymfatickém tkáni spojeném s gastrointestinálním traktem nebo GALT (střevní mukóza).
- GALT zahrnuje vrozené imunitní funkce, poskytované buňkami, které rychle reagují na hrozby a obnovují rovnováhu.
- GALT také zahrnuje adaptivní imunitní funkci, poskytovanou buňkami, které reagují na hrozby a vytvářejí specifickou a robustní imunitní odpověď sliznice.
- Komunikace vrozenými a adaptivními systémy IS je zásadní pro vyloučení nežádoucích nebo neúčinných zánětlivých reakcí na požitá Ag.

# GIT a mikrobiom shrnutí 2

- Imunní indukce nastává v peyerových placích a mezenterických lymfatických uzlinách. Specializované buňky v sliznici, které překrývají plaky, jsou integrálními účastníky adaptivní imunitní odpovědi.
- Imunní efektorové funkce zajišťují v lamina propria specifické lymfocyty a plazmatické buňky, které produkují IgA.
- IgA slouží k neutralizaci toxinů a invazivních organismů, přičemž také udržuje organismy mikrobiomu pod kontrolou.

# GIT a mikrobiom shrnutí -3

- GIT microbiome se vyvinul, aby nás přínosem, a my jsme se vyvinuli ve prospěch složek mikrobiomu.
- Změny v mikrobiómu GIT jsou spojeny se zánětlivými, alergickými a metabolickými onemocněními.
- Orální tolerance požitého proteinu je stanovena interakcí mezi jednotlivými buňkami prezentujícími antigen a modulačními T buňkami.



# Kůže jako imunologický orgán

- Kůže má funkci primárního lymfoidního orgánu  
( Fichtelius KE et al.: Int Arch Allergy 1970;37:607 )
- SALT (skin associated lymphoid tissues)  
(Streilein JW: J Invest Dermatol 1978;71:167-171)
- SIS (skin immune system)  
(Bos JD et al.: J Invest Dermatol 1987;88:569-573)

# Fyziologické obranné bariéry kůže

- Epidermis – vícevrstevnost
- Odumírání
- Přítomnost látek tukové povahy a jejich cidní působení na mikroorganismy
- pH – nízké
- Fyziologická mikrobiální flóra kůže
- G pozit.(corynebacterium, stafylokoky, mikrokoky)

# Fyziologické obranné bariéry kůže

- Prostup infekcí – nejčastěji kožní žlázy a vlasové váčky, nebo mechanickým narušením struktury
- Cizorodé organismy zachycovány pomocí Langerhansových buněk v epidermis i dermis

# Buňky v kožním imunitním systému

Keratinocyty

Melanocyty

Langerhansovy buňky v epidermis - APC

Dendritické buňky v dermis

Fibroblasty – produkce kolagenu, odstraňování apoptotických bb.

Monocyty a makrofágy

Granulocyty (neutrofilní, ojediněle basofilní a eosinofilní)-dermis

Mastocyty

Endotelové buňky lymfatických a krevních cév

Buňky NK (ojedinělé)

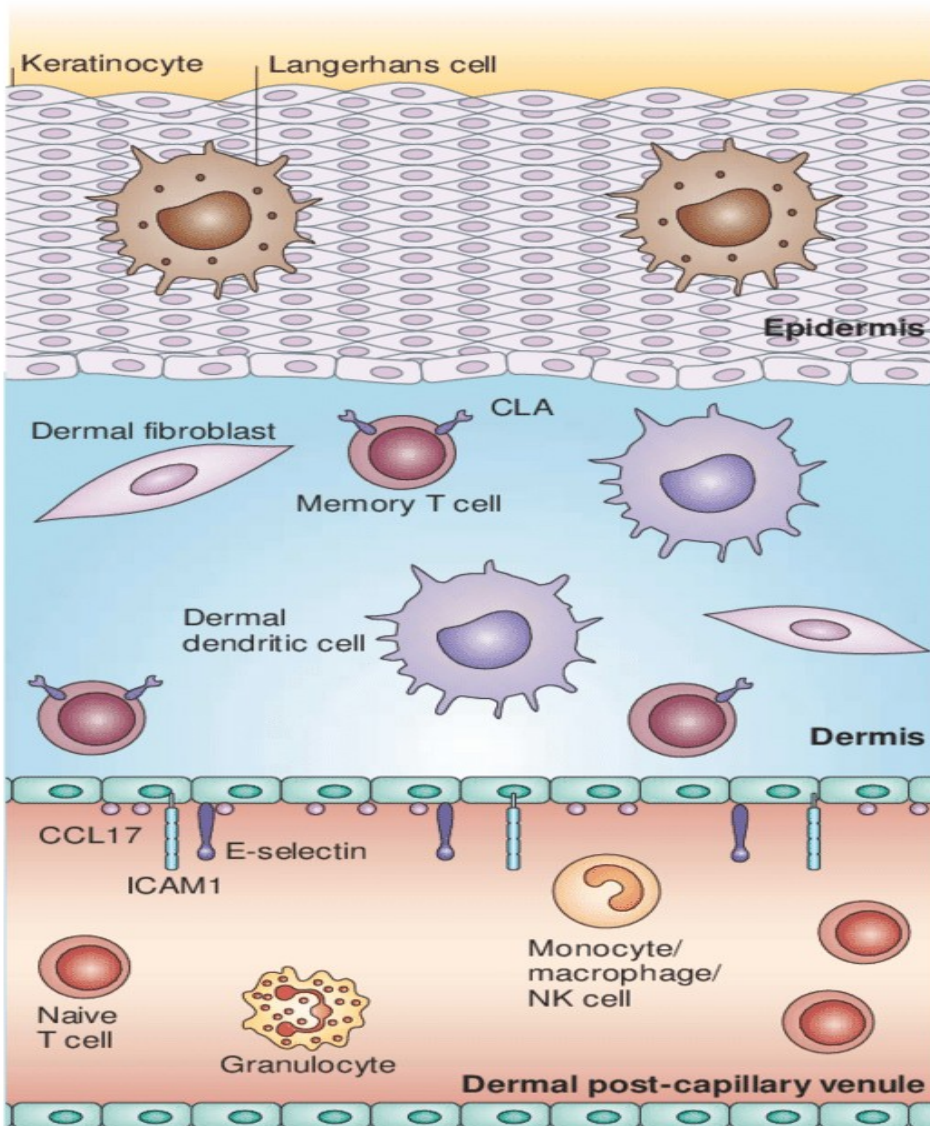
Buňky NKT- dermis

Lymfocyty T (cca 90% a/b a 10% g/d)

v dermis CD3+,CD4+, CD8+; DR+, CD25+

v epidermis CD3+,CD8+

# Buňky v kožním imunitním systému



# Kůže - poškození nebo průnik infekce

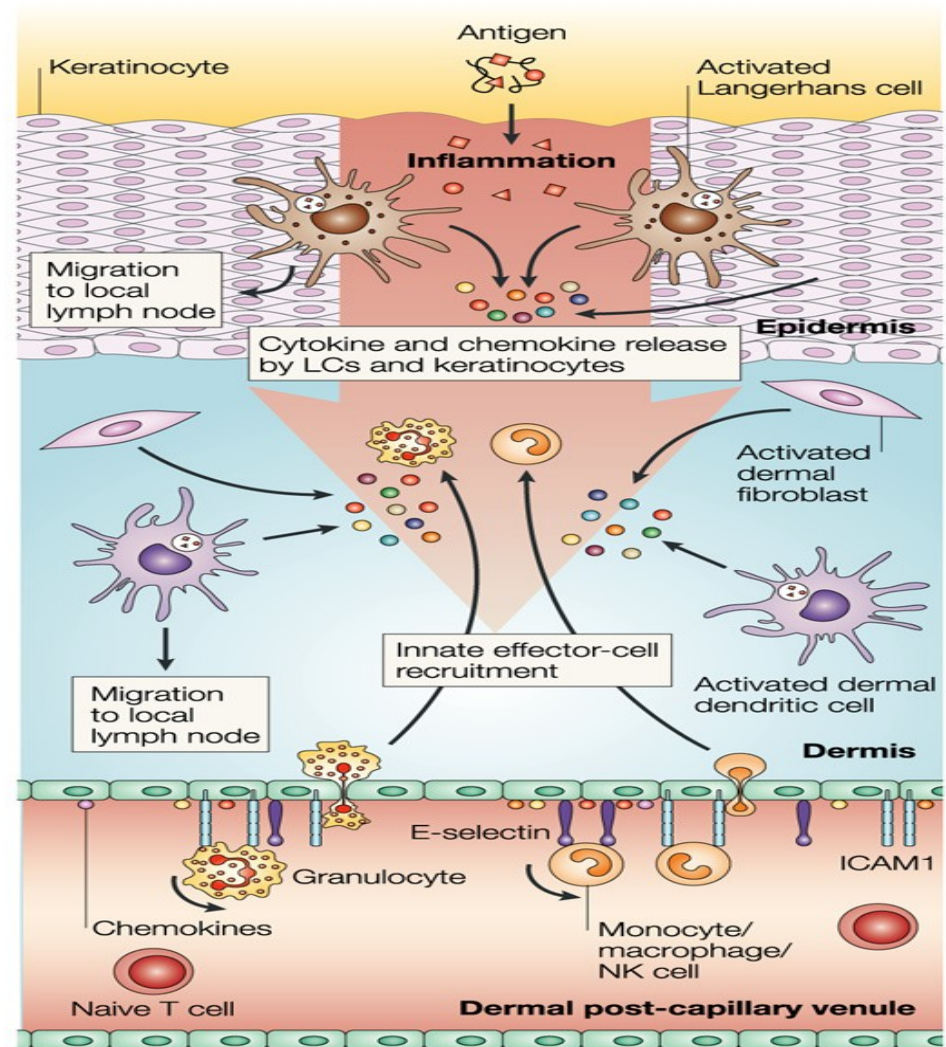
- Dendritické bb – zachycují Ag
- Prezentace T-lymfocytům v lymfatické uzlině
- Vznik efektorových a paměťových T-lymfocytů
- Putování do místa zánětu

# Makrofágy a neutrofily

- Makrofágy jsou fagocytární buňky, které mohou rozlišovat mezi vlastními buňkami těla a cizími molekulami. Po fagocytóze makrofágy je uvnitř buňky zabit napadající patogen. Aktivované makrofágy nprodukuje chemokiny, které působí na neutrofily, aby vystoupily z oběhu a cestovaly do míst infekce nebo zánětu.
- Neutrofily jsou první buňky, které reagují na infekci. Přímou napadají mikroorganismy fagocytózou a degranulací toxických látek.

# Dendritické buňky v kůži

- Langerhansovy buňky
- Kožní dendritické buňky – vyžívají z myeloidních dendritických buněk
  - nacházejí se v dermis
  - funkce – prezentace Ag T-lymfocytům

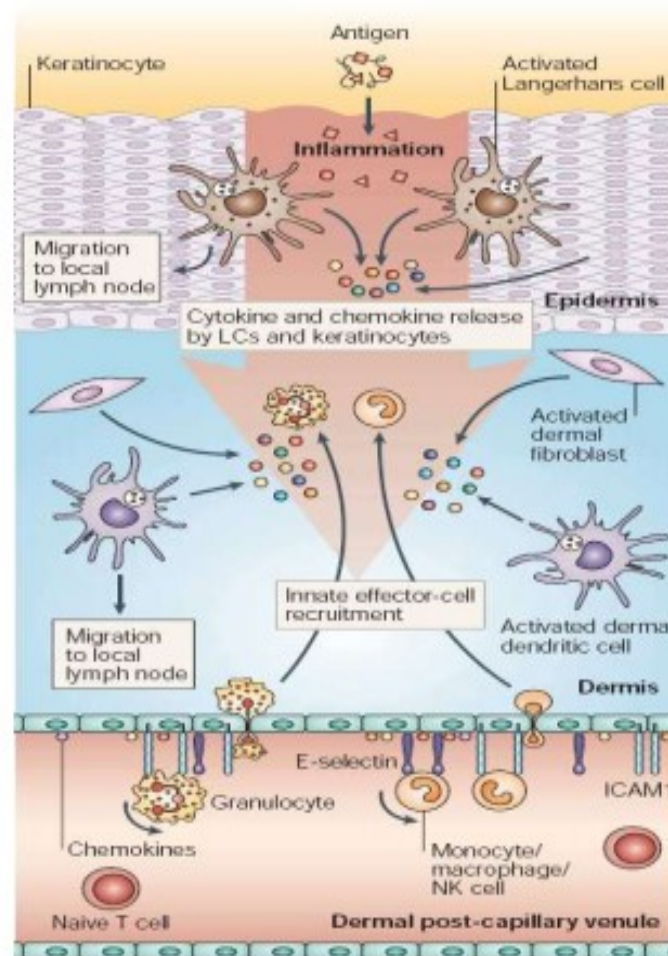




# Funkce Langerhansových buněk

- Exprese CD1a
- Antigeny pronikající epidermální vrstvou jsou vychytávány Langerhansovými buňkami, které poté cíleně migrují do spádové regionální uzliny. Přitom dozrávají a zpracovávají antigenní materiál. Dendritické buňky stimulují primární imunitní reakci s klonální expanzí specifických T a B lymfocytů.

# Imunitní reakce v kůži



# Keratinocyty

- Hlavní složka epidermis
- Diferenciace z kmenových buněk pod vlivem cytokinů
- Působí jako první linie vrozené imunitní obrany proti infekci.
- Exprimují TLR, které detekují konzervované molekuly na patogenech a spouštějí zánětlivou reakci.
- Keratinocyty komunikují se zbytkem imunitního systému prostřednictvím:
  - Antimikrobiálních peptidů (katelicidiny a p-defensiny)
  - Signální cytokiny (např. Interleukin – 1 $\beta$  [IL – 1 $\beta$ ])
  - Chemokiny, které přitahují k epidermis další imunitní buňky
- Při zánětu se mohou chovat jako APC - přímá aktivace aktivovaných T lymfocytů a NK buněk (prostřednictvím hlavního histokompatibilního komplexu I [MHC-I]).
- Zdroj regulačních a efektorových cytokinů
- Regulace procesu krvetvorby

# Humorální faktory v kožním imunitním systému

Antimikrobiální peptidy -defensiny, cathelicidiny,dermcidiny

Lysozym

Složky komplementového systému (C3,fB,fH; CD59 /DAF/,  
CD46 /MCP/, CD59; CR1, CR2)

Cytokiny (IL-1, TNF-a , ... interferony, chemokiny...)

Imunoglobuliny (IgG, IgA vč. SIgA)

Fibrinolysiny

Produkty koagulační kaskády

Eikosanoidy a prostaglandiny

Neuropeptidy

# Klinické imunopatologické stavy spojené s poruchou imunitní funkce kůže

- Puchýřnatá onemocnění kůže – pemphigus vulgaris, pemphigoid
- Psoriasis
- Atopická dermatitida
- UV světlo

# Kůže – ÚV světlo

## imunomodulační působení

- UV 200- 400 nm
- Vede k postižení genetického aparátu kůže
- Na UV reagují melanocyty – tvoří tmavé pigmenty
- Jsou poškozovány epidermální buňky – už za 2 hod po vystavení se slunci
- Dále jsou poškozeny keratinocyty a Langerhansovy buňky
- Modulační imunity – celková a lokální
- Indukce zánětlivé reakce - akumulace neutrofilů, degranulace mastocytů, apoptóza keratinocytů, proliferace keratinocytů
- Převládá Th2 odpověď

# Lidský mikrobiom

- Egypťané si byli velmi dobře vědomi, které části těla budou potřeba v příštím životě: srdce, játra, střevo.
- Naopak mozek vypreparovali skrze nosní dutinu a vyhodili.
- My možná činíme stejnou chybu.
- Donedávna jsme si téměř vůbec nebyli vědomi role mikrobů na a v našich tělech.
- Mikrobiota váží zhruba tolik jako náš mozek.

# Mikrobiota

- Víme, že existují miliardy mikroorganismů a velké množství z nich ještě ani nebylo objeveno
- Někteří z těchto mikrobů jsou dokonce nezbytní pro naše přežití
- Užiteční pro člověka
- Využívání při průmyslové výrobě



# Komensální (normální) mikroflora mikrobiota

- $\sim 10^{14}$  bakterií,  $\sim 1000$  druhů  
~ 50% nekultivovatelných
- složitý ekosystém
- součást přirozené imunity sliznic a kůže
- vzájemné interakce mikroorganismů  
kompetice-kolonizační resistance, “quorum sensing”, produkce bakteriocinů ...
- interakce s makroorganismem: symbiosa, komensalismus, patogenita, účast v metabolismu hostitele (fysiologické funkce)
- modulace imunity

# Mikrobiota – užitečné funkce pro naše střevo

- Vytváří některé vitamíny, na jejichž tvorbu nemáme ty správné geny.
- Dále rozkládají potravu a získávají z ní živiny, které potřebujeme k přežití.
- Učí náš imunitní systém rozpoznávat nebezpečné nájezdníky.
- Produkuje velmi užitečné protizánětlivé látky, které pomáhají bojovat s jinými škodlivými mikroby způsobujícími nemoci.

# Proč se starat o mikrobiom

- Mikroby v našich střevech rozhodují o tom, zda požitá chemikálie (např. Paracetamol) bude nebo nebude toxická pro naše játra.
- Jindy se zdá, že mikroby dokáží z požití potravy ukrást geny, které potom použijí k tomu, aby byla potrava pro nás lépe stravitelná.
- Určují, které požití chemikálie se stanou toxickými pro lidská játra.
- Kradou geny z potravy, aby ji pomohli lépe strávit.
- Mohou rozhodovat o tom, jestli snaha daného člověka zhubnout bude účinná.

# **tělo každého z nás obsahuje přibližně 10 triliónů lidských buněk**

- a 100 triliónů bakterií...
- jsme tedy jen z 10% lidští...
- možná je poměr jen 1:1
- máme kolem 20 000 genů
- a náš mikrobiom 2 – 20 miliónů genů...
- geneticky jsme tedy 1% až 0,1% lidští...

# V čem se tedy lišíme?

- na každém z nás a v každém z nás žije 100 000 000 000 000 mikrobů.  
Tyto mikroby tvoří nejméně 1000 druhů.
- s osobou, která teď sedí vedle nás sdílíme téměř jistě 99,99% genů  
ale jen 10% našeho mikrobiomu!

# Lidský GIT

- Ve srovnání s jinými mikrobiálními komunitami na Zemi, nejsou bakterie lidských vnitřností druhově nijak závratně početné.
- Jen osm ze známých kmenů bakterií (cca 25) je zastoupeno v lidském GIT s z těchto osmi pouze dvě oddělení dominují střevní komunitě:
  - Firmicutes
  - Bacillus
  - Listeria
  - Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides complex
  - Bacteroides samotný (včetně B. fragilis a B. thetaiotaomicron) odpovídají zhruba za 25% bakteriální populace lidského GIT.

# Co víme

- většina mikrobioty člověka je získána a stabilizována před dosažením třetího roku věku.
- jakmile je mikrobiota získána, většina kmenů zůstává v našem těle po desítky let.
- můžeme získat nové mikroby od blízkých členů vlastní rodiny.
- efekty konkrétní linie se mohou projevit až desetiletí po té, co jsme ji získali.

# Co nevíme

- zda a jak podporují residentní mikrobi tvorbu kapilár, střevních buněk a lymfatické tkáně.
- zda jsou některé bakteriální linie lepší než jiné při těchto úkolech týkajících se raného vývoje člověka.
- zda nás určité linie bakterií predisponují k různým nemocem.
- zda existují interakce mezi mikrobiálními liniemi a našimi buňkami, které jsou patologické nebo naopak mohou vytvořit zdatnější fenotyp.
- zda existují linie mikrobů, které mohou ovlivnit vývoj mozku a mohou ovlivnit i chování člověka.



# Human Microbiome Project

- HMP) byl založen v roce 2008
- úkolem je podrobná znalost lidského mikrobiomu a jeho roli pro zdraví a nemoci člověka
- HMP se snaží charakterizovat mikrobiální komunity na několika místech lidského těla:
  - nosní dutina
  - ústní dutina
  - kůže
  - GIT
  - urogenitální trakt

# Co už dnes víme

- Komunity mikrobů v ústní dutině a ve stolici jsou obzvláště druhově bohaté, naopak ve vagíně je druhová bohatost nízká.
- Rozdíly ve složení mikrobiálních komunit u jednoho člověka v průběhu času se ukázaly malé, menší než rozdíly mezi různými lidmi.
- Jedinečnost mikrobiální komunity každého člověka se zdá stabilní v průběhu času, což může být další důležitý rys, který složení mikrobiomu asociuje se zdravím.

# Interakce – mikroby-rostliny

- Velké množství mikrobů se vyskytuje v přírodě a pomáhá rostlinám růst.
- Rhizobakterie se například nacházejí v půdě navázány na dusík, který je velice důležitý pro růst většiny plodin.
- Kořeny rostlin – Mikroby
- Výroba kyslíku v přírodě – sinice nebo modrozelené řasy vyrábějí kyslík v oceánech.

# Rozklad organického materiálu v přírodě

- Je definován jako rozložení organického materiálu na anorganický (využití např. při kompostování).
- Nejprve je organický materiál napaden plísněmi, které jsou následně vystřídány bakteriemi.
- Bez této recyklace organického materiálu by se zastavila primární produkce potravin na celém světě.

# Mikroby v potravinářském průmyslu

- Sýr a jogurt
  - Mléčné kvašení se využívá k výrobě jogurtů a sýrů.
  - Bakterie *Lactobacilli* se využívá při výrobě jogurtů a sýrů
- Některé plísně dokonce dokážou změnit barvu sýru na modro (např. Niva)!
- Chléb a kynuté výrobky
  - Kvasnice se využívají k výrobě chleba a výrobků z kynutého těsta.
- Výroba alkoholu
- Kvasinky se využívají také při výrobě alkoholu.
  - Alkohol se vyrábí kvašením bez přístupu vzduchu.
- *Saccharomyces cerevisiae* je kvasinka, která se využívá při výrobě chleba a alkoholu.

# Probiotika a prebiotika

- Probiotikum (pro = příznivý, bios = život) = živá mikrobiální součást potravy, která při konzumaci dostatečného množství vykazuje příznivé účinky na zdraví konzumenta (definice WHO).
- Z toho vyplývá, že potraviny, obsahující probiotické bakterie (a případně také prebiotika) jsou často zařazovány mezi tzv. funkční potraviny.
- Prebiotikum = nestravitelná složka potravy, která selektivně stimuluje růst a nebo modifikuje metabolickou aktivitu jednoho nebo více bakteriálních druhů ve střevě a tak zlepšuje zdraví hostitele

# Synbiotikum

- Synbiotikum = potravinářský produkt, který obsahuje probiotické i prebiotické složky současně
- Startovací kultura = komerční preparát obsahující živé mikroorganismy, které v potravine vyvíjejí požadovanou metabolickou aktivitu (zejména potlačení rozvoje nežádoucích patogenních mikroorganismů (např. salmonel, listerií, klostridií), které je dosahováno produkcí kyseliny mléčné a některých druhů bakteriocinů, kdy oba druhy látek mají doložené bakteriostatické až baktericidní účinky.)
- Nejčastěji se startovací kultury používají při výrobě masných výrobků, zejména těch, které jsou označovány jako trvanlivé a nebo těch, které neprocházejí významnějším tepelným opracováním.

# Nejznámější probiotické organismy

- Bifidobacterium spp. (B. bifidum, B. longum, B. breve, B. infantii, B. lactis)
- Enterococcus spp. (E. faecium, E. faecalis)
- Lactobacillus spp. (L. acidophilus, L. bulgaricus, L. casei/paracasei, L. fermentum, L. gasseri, L. helveticus, L. johnsonii, L. plantarum, L. rhamnosus, L. reuteri, L. salivarius)
- Lactococcus lactis
- Propionibacterium freudenreichii
- Saccharomyces boulardii
- Streptococcus thermophilus



# Příznivé účinky probiotik na zdraví

- imunomodulační (např. zvyšují fagocytózu a aktivitu NK buněk (natural killer))
- zmírnění laktózové intolerance
- snížení rizika rakoviny střevního traktu
- Střevní sliznice hraje významnou úlohu v navození správné funkce imunitního systému střevní sliznice (např. metabolické produkty jsou využívány pro tvorbu mukózy, produkují vitamíny...).
- Projevem správné funkce je mimo jiné navození tzv. orální tolerance (nereaktivnost střevní a systémové (celotělové) imunity na imunogenní složky potravy).
- Narušením rovnováhy mezi imunitní reakcí a imunitní tolerancí dochází k rozvoji řady onemocnění infekčních, alergických a autoimunitních.
- Probiotické mikroorganismy mohou modifikovat složení a metabolické a enzymatické aktivity střevní mikroflory.

# Formy probiotik

- Probiotické mikroorganismy jsou nejčastěji používány jako součást specifických mléčných výrobků nebo doplňky stravy, v posledních letech také jako součást kojenecké a dětské výživy.
- Najdeme je rovněž v kysaném zelí, nakládaných houbách, zrajících sýrech, brynze, ementálu...
- Existují i méně typické případy spojení probiotických bakterií s potravinami.
- Na trhu se např. vyskytují oplatky s náplní obohacenou o bifidobakterie, trvanlivé masné výrobky, u nichž se však většinou jedná o startovací kultury.

# Prebiotika

- Prebiotiky jsou většinou fruktooligosacharidy (např. inulin) nebo vláknina, které podporují růst a metabolickou aktivitu probiotických a nikoli ostatních střevních bakterií a tím zvyšují jejich prospěšné účinky.
- Např. inulin je specificky využíván bifidobakteriemi, hovoří se o tzv. bifidogenním efektu, jenž však dosud nebyl zcela přesvědčivě demonstrován v klinických studiích.
- Zkoumány jsou i další „pomocné“ účinky jako je zvýšení absorpce některých minerálních látek (vápník, hořčík), inhibice prekancerózy adenomů a karcinomů.