

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra biologických a lékařských věd

**STŘEVNÍ MIKROBIOTA A PORUCHY NÁLADY**

Diplomová práce

**Lucie Ambrožová**

Vedoucí práce: Doc. MUDr. Josef Herink, DrSc.

Hradec Králové 2016

## **ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE**

**Katedra:** biologických a lékařských věd

**Na akademický rok:** 2015/2016

**Jméno a příjmení:** Lucie Ambrožová

**Studijní program:** Farmacie

**Vedoucí diplomové práce:** doc. MUDr. Josef Herink, DrSc.

**Název diplomové práce:** Střevní mikrobiota a poruchy nálady

**Název diplomové práce v angličtině:** Intestinal microbiota and mood disorders

**Zásady pro vypracování:** Text bude zaměřen v duchu: "dnes je již jasné, že naši mikrobiální společníci ovlivňují naše osudy mnohem více, než se předpokládalo". V úvodní části práce bude vysvětleno, že vzhledem ke složitosti problematiky je vlastním cílem speciální části práce popsat podíl střevní mikroflóry na formování nálady a jejich poruchách (reakce na stres, úzkost, deprese), stranou tak zůstává oblast autoimunitních onemocnění CNS. Budou také vysvětleny základní pojmy, např. komensalismus, mikrobiom, mikrobiota, "quorum sensing drugs" apod. Následovat bude stručný popis enterického imunitního systému, podrobněji pak střevní mikroflóry a jejích hlavních rodů a druhů, její vývoj během ontogeneze jedince a ovlivnění stylem života, základní enterotypy. Dále budou popsány způsoby komunikace jednak uvnitř mikrobiomu, jednak pak v rámci entero-encefalické osy. Speciální část pak bude věnována vlivům entero-encefalické osy na chování obecně, na stresem indukované chování, neurochemii tryptofanu a 5 - hydroxytryptaminu, úzkost a deprese. Závěrečná úvaha se bude týkat podílu "psychobiotik" na adjuvantní léčbě poruch nálady.

### **Předběžná náplň práce:**

Zadání práce

Abstrakt

Úvod

Enterický imunitní systém (stručný přehled)

Přirozená střevní mikroflóra (terminologie, složení, enterotypy, ovlivnění v průběhu života)

Vzájemná komunikace mezi střevní mikroflórou a mozkem:

- Jak mozek ovlivňuje mikrobiom
- Jak mikrobiom ovlivňuje mozek

Podíl mikrobiomu na metabolismu tryptofanu a syntéze 5 - hydroxytryptaminu

Úloha mikrobiomu při poruchách nálady

Psychobiotika jako nová skupina psychotropních léčiv

Seznam použité literatury

**Seznam odborné literatury:**

BERER K. a KRISHNAMOORTHY G., 2014: Microbial view of central nervous system autoimmunity. *FEBS Letters*, 588: s. 4207–4213.

FOSTER J. A., McVEY NEUFELD K. - A., 2013: Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36, s. 305–312.

O'MAHONY S. M., CLARKE G., BORRE Y. E., DINAN T. G., CRYAN J. F., 2015: Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, 277: s. 32–48.

TLÁSKALOVÁ - HOGENOVÁ H., MĚSTECKÝ J., 2012: Účast slizničního imunitního systému a komensálních bakterií v alergii. *Alergie*, 14: s. 124–125.

WANG Y., KASPER L. H., 2014: The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*, 38: s. 1–12.

ZÁVADA F., 2010: Gastrointestinální imunitní systém. *Medicína pro praxi*, 7: s. 268–269.

*„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“*

Datum: 30. 4. 2016

Podpis:

.....

## **PODĚKOVÁNÍ**

Srdečně děkuji svému školiteli Doc. MUDr. Josefu Herinkovi, DrSc. za poskytnutí odborné literatury a velice užitečné připomínky, rady a nápady.

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Lucie Ambrožová

Školitel: Doc. MUDr. Josef Herink, DrSc.

Název diplomové práce: Střevní mikrobiota a poruchy nálady

Střevní mikrobiom je složen zejména ze dvou dominujících kmenů *Bacteroidetes* a *Firmicutes*. Další kmeny jsou zastoupeny v menší míře. Jedinci mají stabilní jádro mikrobiomu, které se v průběhu času nemění, a také příležitostné střevní bakterie, které se mění v průběhu života. Střevní mikrobiom ovlivňuje řada faktorů. Mezi ně patří například způsob porodu, kojení, strava, zdravotní stav a léky. Každý jedinec má svůj specifický mikrobiom. Bylo však zjištěno, že lidskou populaci lze rozdělit do tří střevních skupin neboli enterotypů. V každém enterotypu dominuje jiný bakteriální kmen. Bylo prokázáno, že střevní mikrobiom komunikuje s mozkem a funguje to i opačně. Tato komunikační cesta bývá nazývána osa střevo – mozek a probíhá prostřednictvím několika mechanismů (nervovým, endokrinním, metabolickým a imunitním). K normálnímu vývoji mozku je zapotřebí správné osídlení střev nepatogenními bakteriemi. Narušení symbiózy mikrobiomu může vést k poruchám nálady, a také k neuropsychiatrickým poruchám (deprese, autismus, schizofrenie a další). Zjistilo se, že serotoninergní systém hraje významnou roli v patogenezi poruch nálady. Pokud dochází k ovlivnění mikrobiomu, je ovlivněna dostupnost tryptofanu, což je prekurzor serotoninu. Uvažuje se o nové skupině látek, takzvaných psychobioticích, které by mohly upravit složení střevního mikrobiomu a tím zlepšit neuropsychiatrické stavy.

Klíčová slova:

osa střevo – mozek, mikrobiota, mikrobiom, poruchy nálady, deprese, úzkost, stres, serotonin

## ABSTRACT

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Candidate: Lucie Ambrožová

Supervisor: Doc. MUDr. Josef Herink, DrSc.

Title of diploma thesis: Intestinal microbiota and mood disorders

The intestinal microbiom is composed mainly of two dominated strains - *Bacteroidetes* and *Firmicutes*. The other strains are just not numerous like the previous ones. The specimens have the invariable core of microbiom which doesn't change in time. Nevertheless they have also the transient gut bacteria, which change during their life. Intestinal microbiom is influenced by many factors. Between them we can categorize for example the way of the childbirth, the breast - feeding, the alimention, the state of health, and the medicaments. Every specimen has own specific microbiom. It was found that human population is possible to divide into three intestinal groups or enterotypes. To each enterotype dominates different bacterial strain. It was proved that intestinal microbiom communicates with the brain and it works also vice versa. This communication system is called "brain – intestine" and takes several ways in several body systems (such as nervous, endocrine, metabolic, and immune). To normal development of the brain is needed the right colonisation of non – pathogenic bacteria in the gut. The disruption of the microbiom's symbiosis can lead to the mood disorders and can cause the neuropsychiatric disorders (like depression, autism, schizophrenia, and ect.). Moreover it was found that serotonergic system plays an important role in pathogenesis of mood changes. It means that if there's the influence of microbiom, the accessibility of tryptophan is influenced too, which is the precursor of serotonin. Regarding this fact there are the speculations of new groups of the substances, the so – called psychobiotics, which can fix the composition of intestinal microbiom and consequently improve the neuropsychiatric conditions.

Key words:

brain-gut axis, microbiota, microbiome, mood disorders, depression, anxiety, stress-related behaviour, serotonin

## OBSAH

1 ÚVOD A ZADÁNÍ PRÁCE .....	9
2 ENTERICKÝ IMUNITNÍ SYSTÉM .....	10
3 PŘIROZENÁ STŘEVNÍ MIKROBIOTA .....	11
3.1 Terminologie .....	11
3.2 Složení .....	11
3.3 Enterotypy .....	12
3.4 Ovlivnění v průběhu života .....	13
4 VZÁJEMNÁ KOMUNIKACE MEZI STŘEVNÍ MIKROBIOTOU A MOZKEM ...	15
4.1 Jak mozek ovlivňuje mikrobiom .....	16
4.2 Jak mikrobiom ovlivňuje mozek .....	17
4.2.2 Endokrinní mechanismus .....	18
4.2.4 Imunitní mechanismus .....	20
5 PODÍL MIKROBIOMU NA METABOLISMU TRYPTOFANU A SYNTÉZE	
5 - HYDROXYTRYPTAMINU .....	22
5.1 Tryptofan .....	22
5.2 Serotonin .....	23
5.3 Syntéza serotoninu .....	23
5.5 Regulace tryptofanového metabolismu a syntézy serotoninu .....	27
5.5.1 Nepřímá mikrobiální regulace .....	27
5.5.2 Přímá mikrobiální regulace .....	27
5.6 Vývoj osy mozek – střevo a serotoninergního systému v průběhu života .....	28
6 ÚLOHA MIKROBIOMU PŘI PORUCHÁCH NÁLADY .....	29
6.1 Úzkost a stres .....	30
6.2 Deprese .....	33
6.3 Porucha autistického spektra .....	35
6.4 Schizofrenie .....	37
7 PSYCHOBIOTIKA .....	40
8 ZÁVĚR .....	43
9 PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK .....	44
10 LITERÁRNÍ ZDROJE .....	46



# 1 ÚVOD A ZADÁNÍ PRÁCE

Střevní mikrobiota se skládá z  $10^{14}$  mikroorganismů, což je o jeden řád více než je počet eukaryotických buněk v těle. Střevní bakterie jsou důležitou složkou v našem těle. Mají schopnost produkovat mnoho neuroaktivních molekul, podílí se na správné funkci střeva, chrání nás proti škodlivým patogenům. Pokud dojde k narušení střevního mikrobiomu, může dojít ke vzniku různých onemocnění, nejen týkajících se střeva. Díky propojení střevního mikrobiomu a mozku může docházet k poruchám CNS funkcí.

Zadáním a cílem této práce je podání informací o faktorech, které ovlivňují střevní mikrobiom. Dále zmínění existence vzájemné komunikace mezi střevním mikrobiomem a mozkem, jakými mechanismy a cestami mezi sebou komunikují. Další kapitola popisuje, jak se podílí střevní mikrobiom na metabolismu serotoninu, který hraje klíčovou roli v patogenezi poruch nálad. Celá další kapitola pak pojednává o úloze mikrobiomu při poruchách nálad, s rozebráním několika neuropsychiatrických poruch a možnou souvislostí s dysbiózou. V poslední kapitole je v krátkosti shrnuta potenciální skupina psychotropních látek – psychobiotik. Tato skupina látek může v budoucnu pomoci v léčení neuropsychiatrických poruch, to vše je ale ve fázi výzkumu.

## 2 ENTERICKÝ IMUNITNÍ SYSTÉM

Součástí trávicího traktu (GIT) je imunitní systém, který má za úkol chránit jedince před patogenními organismy a toxiny, které mohou narušit střevní integritu a také homeostázu organismu jako celku. Jeho dalším úkolem je odlišit látky tělu škodlivé od neškodných. K zajištění homeostatické funkce proto vznikly specializované slizniční lymfatické tkáně (MALT – *mucosa associated lymphoid tissue*, slizniční lymfoidní tkáň, Závada, 2010). Bývají považovány za nejdůležitější sekundární orgán imunitního systému (Krejsek et al., 2007). Slizniční imunitní systém se vyznačuje tím, že v něm dominuje imunoglobulinový IgA izotyp, a to jak na sliznicích, tak i ve slizničních sekretech. IgA zajišťuje bariérovou funkci sliznic (Závada, 2010; Tlaskalová – Hogenová a Městecký, 2012).

V GIT probíhá nejintenzivnější interakce, proto zde došlo k přizpůsobení slizničního imunitního systému a jsou zde různé odlišnosti. Tato tkáň bývá označována jako GALT (*gut associated lymphoid tissue*, střevní lymfoidní tkáň, Závada, 2010).

GALT systém se skládá ze tří složek, jsou to Peyerovy pláty, lamina propria a intraepiteliální lymfocyty. Peyerovy pláty jsou makroskopické struktury, které jsou pokryty z velké části lemem enterocytů, nacházející se ve sliznici a submukose ilea (Závada, 2010). Jejich hlavní funkce spočívá v poznávání antigenů pomocí speciálních M-buněk, vmezeřených mezi epitelie, které jsou spojeny s Peyerovými pláty (Vulchanova et al., 2007; Závada, 2010). Imunitní děje, které zde probíhají, nemají pouze lokální význam, ale podílí se i na slizniční imunitě mnoha jiných orgánových soustav. Druhou neméně významnou složkou je lamina propria, kterou najdeme pod střevním epitelem. Vyskytují se zde T a B lymfocyty, plazmatické buňky, makrofágy, natural-killer buňky, dendritické a žírné buňky. V lamina propria tvoří významný podíl v populaci T lymfocytů paměťové buňky, které se dostaly do kontaktu s antigeny v Peyerových plátech. Poslední významnou složkou jsou intraepiteliální lymfocyty, které jsou vtěsnány mezi epiteliální buňky podél jejich bazolaterálních pólů. Na 100 střevních klků připadá zhruba 10-20 intraepiteliálních lymfocytů. Pokud si uvědomíme, jak velký povrch střevo má, zjistíme, že představuje velký podíl na celkovém počtu lymfocytů v organismu. Tyto lymfocyty se však v mnohém odlišují od těch, kteří se nachází v systémové cirkulaci. Jsou to většinou cytotoxické lymfocyty (CD8+). V tlustém střevě většina a v tenkém zhruba polovina těchto lymfocytů rozeznává MHC povrchové molekuly I. třídy a má cytoto-

xické vlastnosti, jejichž cílem jsou poškozené nebo jinak změněné epitelové buňky (Závada, 2010).

## 3 PŘIROZENÁ STŘEVNÍ MIKROBIOTA

### 3.1 Terminologie

V GIT se nachází různé druhy mikroorganismů (bakterie, viry, kvasinky). Termín „flóra“ byl nahrazen modernějším pojmem „mikrobiota“ zčásti i proto, že pojmem flóra se tradičně myslí rostlinná říše (Frič, 2010; Dinan a Cryan, 2012).

Mikrobiota: „je společenství žijících mikroorganismů sídlících v stanovené ekologické nise (Icaza - Chávez, 2014).“

Komenzální mikrobiota (komezálové) je: „mikrobiální společenství trávicí trubice bez choroboplodných zárodků (Frič, 2010).“ Vztah mezi hostitelem a touto mikrobiotou je oboustranně prospěšný (Foster a McVeyNeufeld, 2013).

Mikrobiom zahrnuje: „všechny mikroorganismy, jejich geny a jejich metabolity (Icaza - Chávez, 2014).“

„Quorum sensing“ látky jsou: „molekuly umožňující bakteriím koordinovaně regulovat expresi svých genů, tím jsou schopny synchronizovat svoje chování a chovat se v mnoha ohledech jako mnohobuněčný organismus (Krejsek et al., 2007).“ Obecněji pojem „quorum sensing“ značí typ rozhodovacího procesu využívaného decentralizovanými skupinami či společenstvy (např. hmyzu) k jednotné reakci („kolektivnímu“ rozhodnutí).

### 3.2 Složení

Trávicí trubice embrya a plodu je sterilní, ke kolonizaci postupně dochází až při porodu, a shoduje se s mateřskou mikrobiotou (Krejsek et al., 2007; Frič, 2010; Dinan a Cryan, 2012).

Nejprve je střevo kolonizováno fekálními mikroorganismy (*Streptococcus*, *Staphylococcus* aj.). Mají schopnost spotřebovávat kyslík, dochází ke změně oxidoredukčního

potenciálu konkrétně ke snížení, vytváří se vhodné prostředí pro další mikroorganismy, jako jsou rody *Bacteroides* a *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* (Krejsek et al., 2007; Frič, 2010).

Celkový počet mikrobiálních druhů byl stanoven pomocí kultivačních metod na zhruba 400-500 druhů a celkový počet mikroorganismů na  $10^{14}$ . Uvádí se i údaj  $10^{14}$  -  $10^{15}$  mikroorganismů (Foster a McVeyNeufeld, 2013). Z toho vyplývá, že celkový počet mikroorganismů převyšuje počet eukaryotických buněk, a to o celý jeden řád. Bohužel tyto původně používané metody nejsou přesné a podařilo se jimi zjistit zhruba 40 % mikrobiálních druhů. Zavedení metod molekulární genetiky upřesnilo původní odhady založené na kultivačních metodách. Zjistilo se, že mikrobiota obsahuje zejména zástupce dvou mikrobiálních kmenů. První kmen se nazývá *Firmicutes*, členové patří mezi grampozitivní organismy a tento kmen převažuje, druhý je kmen *Bacteroidetes* – gramnegativní (Frič, 2010). V menším počtu jsou potom zastoupeny kmeny *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* a *Verrucomicrobia* (Dinan et al., 2013; Marques et al., 2014). Nyní se počet rodů odhaduje na 1800, počet druhů na 15000-36000. Tyto počty se však v různých zdrojích liší. Je důležité si uvědomit, že střevní mikrobiota ovlivňuje funkci střeva, a to konkrétně vstřebávání, motilitu, sekreci aj. (Frič, 2010).

### 3.3 Enterotypy

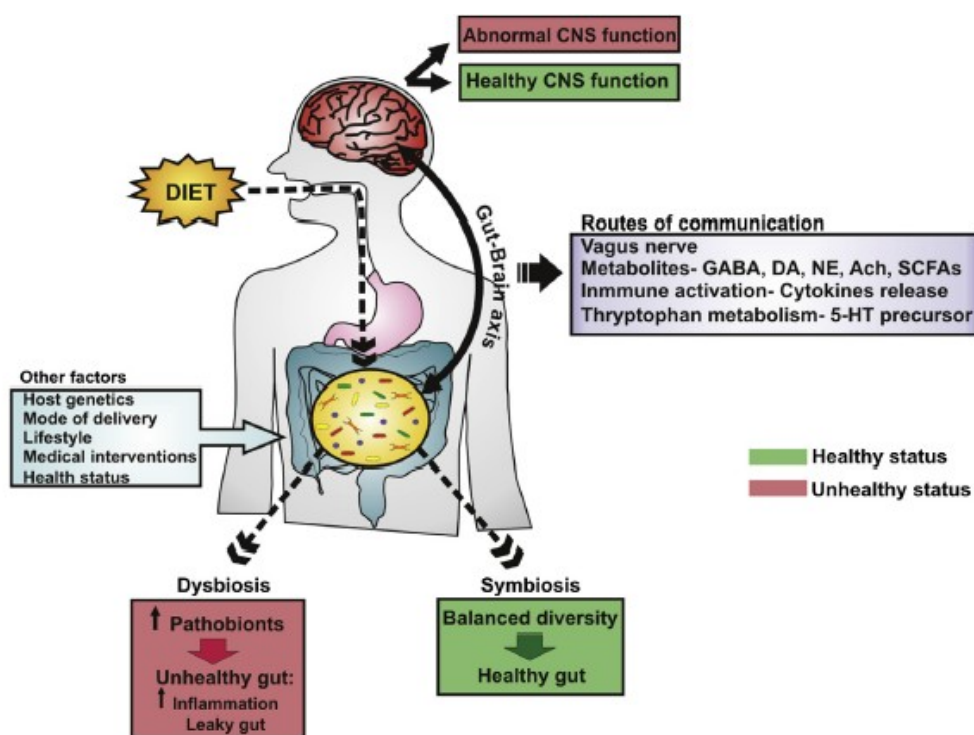
I když každý jedinec má svůj specifický mikrobiom, zjistilo se, že můžeme klasifikovat lidi podle tří enterotypů neboli střevních skupin. První je enterotyp A, kde převažují bakterie rodu *Bacteroidetes*, druhý je enterotyp B s převahou bakteriálního rodu *Prevotella*. Poslední je enterotyp C, kde převládá rod *Ruminococcus*. Pro vyrábění energie z fermentovaných substrátů, které jsou dostupné ve střevě, využívá každý enterotyp jinou cestu. Zjistilo se, že rozdělení do různých enterotypů není závislé na pohlaví, věku, BMI ani rase. Je pravděpodobnější, že přiřazení k danému enterotypu spíše souvisí se stravovacími návyky (Marques et al., 2014). U lidí s enterotypem A převažuje dieta s vyšším obsahem proteinů a živočišných tuků. U enterotypu B převažují především cukry. A v posledním typu C je to alkohol a polynenasycené tuky (Tlaskalová – Hogenová a Městecký, 2012). Při porovnání složení střevní mikrobioty tlustých a hubených jedinců se zjistilo, že se výrazně liší, a to zejména v podílu dvou hlavních bakteriálních skupin *Firmicutes* a *Bacteroidetes*. Je zde snaha prozkoumat mechanismy, kterými

střevní bakterie využívají energii získanou z potravy a najít nejpříjemnější složení mikrobioty nebo objevit konkrétní kmeny, které by pomohly při léčbě obezity (Tlaskalová – Hogenová a Městecký, 2012).

### 3.4 Ovlivnění v průběhu života

Jakými populacemi bakterií bude kolonizováno střevo jedince, o tom rozhoduje typ bakterií, kterým je dítě vystaveno v prvních hodinách svého života. Primárním ukazatelem, jak bude vypadat složení mikrobioty je způsob porodu (Marques et al., 2014, O'Mahony et al., 2015). Děti, které se narodily císařským řezem, budou zpočátku vystaveny mateřské mikrobiotě kůže, kde dominují *Staphylococcus*, *Corynebacterium* a *Propionibacterium spp* s menším počtem *Bifidobacteria spp*, zatímco děti narozené vaginálně budou kolonizovány bakteriemi poševními a fekálními například *Lactobacillus spp*. Liší se také složení střevní mikrobioty předčasně narozených dětí od dětí donošených. U nedonošených dětí dominuje zpočátku *Proteobacteria* s menším zastoupením *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* (O'Mahony et al., 2015). Jedinec však není vystaven jenom těmito bakteriím, ale také bakteriím vyskytujícím se volně v okolním prostředí, do kterého patří zdravotníci, ostatní novorozenci, vzduch, přístroje. V této době je střevní mikrobiota méně komplexní a stabilní ve srovnání s dospělou. Také kojení, respektive mateřské mléko, přispívá k utváření mikrobioty, neboť obsahuje různorodou směs oligosacharidů, mimo jiné také cytokiny, lysozomy a laktoferiny, které jsou nepostradatelné pro správný vývoj a dozrávání střeva. Mléčné oligosacharidy v lidském mateřském mléce se chovají jako prebiotické substráty. Jejich úkolem je stimulovat růst prospěšných bakterií, jako jsou bifidobakterie, a mohou zvyšovat jejich působení ve střevě. Po skončení kojení a přechodu na pevnou stravu se změní složení střevní mikrobioty, dochází ke zvýšení počtu *Bacteroidetes* a *Firmicutes* a stále více se podobá mikrobiotě dospělých osob (Marques et al., 2014). Během prvních 2-3 let života dochází ke stabilizaci složení nejdůležitějších bakteriálních skupin (Tlaskalová – Hogenová a Městecký, 2012). Neznamená to však, že všichni, kteří se narodili přirozenou cestou, mají stejné složení mikrobioty. Jedinci sice mají relativně stabilní jádro mikrobiomu, ale počty příležitostných střevních mikrobů se u různých osob značně liší v závislosti na různých faktorech. Mezi tyto faktory řadíme choroby, které jedinec prodělá, podávání léků - zejména antibiotik i změnu stravování (Marques et al., 2014). Ve většině případů však

po odeznění narušujícího faktoru dochází k obnově původní střevní mikrobioty, tak jak byla založena v raném dětství (Dinan a Cryan, 2012; Tlaskalová – Hogenová a Městecský, 2012). Zároveň bylo prokázáno, že složení střevní mikrobioty bývá ovlivněno věkem, například se zjistilo, že počet bifidobakterií klesá s narůstajícím věkem, a to potom nepříznivě ovlivňuje zdraví seniorského hostitele (Dinan a Cryan, 2012). Změna střevní mikrobioty je spjata s různými nemocemi, a to obezitou, diabetem, aterosklerózou nebo zánětlivým onemocněním střev (Marques et al., 2014).



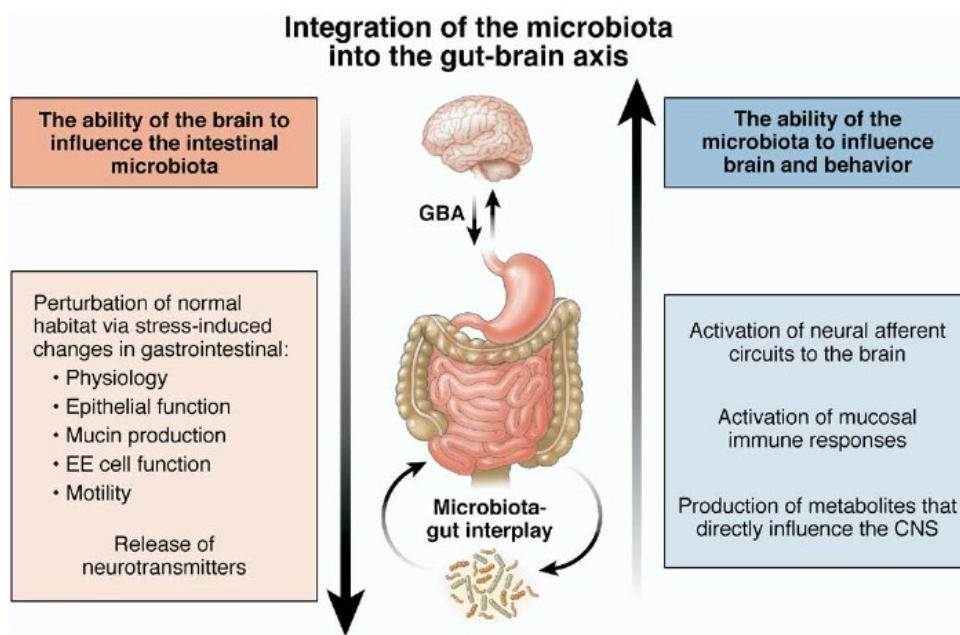
**Obrázek 1. Faktory ovlivňující střevní mikrobiotu a cesty komunikace v ose střevo – mozek.** Převzato z Oriach et al., 2016. Bližší popis v textu.

Mnoho faktorů může ovlivnit střevní mikrobiotu, konkrétně to může být dieta, genetika, životní styl, způsob porodu, zdravotní stav a také lékařské zákroky. Pokud je střevní mikrobiota vyvážená, označujeme tento stav za symbiózu. Pokud dojde k přemnožení patologických organismů, nastává stav dysbiózy, zvyšuje se riziko zánětlivé reakce. Tím může dojít k narušení funkcí centrálního nervového systému (CNS). Vzájemná komunikace je realizována zejména bloudivým nervem, produkcí signálních molekul

např. kyseliny gama – aminomáselné (GABA), dopaminu (DA), norepinefrinu (NE), acetylcholinu (Ach), mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFAs) a mnoho dalších. Další možnost představuje imunitní aktivace probíhající pomocí cytokinů a přes tryptofanový metabolismus, jelikož tryptofan je prekurzor serotoninu (5 – HT). Stav střevní mikrobioty se samozřejmě projeví i na stavu CNS funkcí (obr. 1).

## **4 VZÁJEMNÁ KOMUNIKACE MEZI STŘEVNÍ MIKROBIOTOU A MOZKEM**

Střevo nejen, že přijímá regulační signály z centrálního nervového systému (CNS), ale funguje i zpětná vazba. To znamená, že je střevo schopno vysílat signály do mozku a mozek je přijímá. V literatuře se obecně vyskytuje pojem osa střevo - mozek, který zahrnuje aferentní a eferentní nervové spoje, endokrinní, nutriční a imunitní signály (Wang a Kasper, 2014). Tento koncept osy entero - encefalické osy může být rozšířen na osu mikrobiota - střevo - mozek, protože i střevní mikrobiota může mít vliv na mozek. Mezi schopnosti střevní mikrobioty a jejich metabolitů můžeme zařadit modulaci jak periferního nervového systému, tak i CNS, dále potom i ovlivnění vývoje mozku a mozkových funkcí. Tento obousměrný komunikační systém ovlivňuje normální homeostázu organismu a její případné změny a od nich se odvozující dysregulace gastrointestinálního, centrálního, autonomního nebo imunitního systému, které mohou být jednou z příčin vzniku různých onemocnění (Foster a McVeyNeufeld, 2013).



**Obrázek 2. Integrace střevní mikrobioty v ose střevo – mozek.** Převzato z Collins a Bercik, 2009. Bližší popis v textu.

Na obrázku 2 jsou znázorněny mechanismy, kterými střevní mikrobiota ovlivňuje mozek a naopak. Tato komunikace probíhá oběma směry. Na obrázku vlevo je znázorněno, jak mozek ovlivňuje střevní mikrobiotu. Narušením normálního střevního osídlení prostřednictvím stresu dojde ke změnám ve fyziologii, ve funkcích epitelu, produkci mucinu, funkci enteroendokrinních (EE) buněk a motilitě. Dochází k uvolnění neurotransmiterů. Vpravo je znázorněno, jak střevní mikrobiota ovlivňuje mozek. Prostřednictvím aktivace nervových aferentních spojů, dále také aktivací slizniční imunitní odpovědi a produkcí metabolitů.

#### 4.1 Jak mozek ovlivňuje mikrobiom

Jednou z možností, jak mozek působí na mikrobiom je využití drah a mediátorů systému centrální regulace pocitu hladu a sytosti. Díky této kontrole lze např. navodit změnu v dostupnosti živin pro střevní mikrobiotu a tím pádem i složení mikrobioty. Aby tato kontrola byla možná, je zapotřebí účast peptidů navozujících pocit sytosti, které jsou v průběhu příjmu potravy transportovány krví do mozku. Primárně se sice produkují v GIT, ale většina z nich se zároveň tvoří i v mozku (Wang a Kasper, 2014).



Další možností je ovlivnění prostřednictvím nervových a endokrinních drah, a to buď přímo, nebo nepřímo. Autonomní nervový systém a osa hypotalamus – hypofýza – nadledviny (HPA) mohou modulovat střevní fyziologii prostřednictvím motility, epiteliální permeability a sekrece (Wang a Kasper, 2014). HPA osa, hlavní stresová osa, umožňuje vzájemnou komunikaci hormonů v rámci osy střevo – mozek. Důležitý je ontogenetický vývoj této osy, pokud je osa dostatečně funkční, zajistí jedinci schopnost vyrovnat se a přizpůsobit se psychickým i fyzickým stresorům. Pokud je jedinec brzy po narození vystaven stresoru, který je schopný aktivovat HPA osu, může zároveň dojít k ovlivnění vyvíjející se mikrobioty až směrem k její dysbalanci a k nepřiměřené stresové reakci (O'Mahony et al., 2015). Výzkum, který byl proveden na potomstvu vystavenému oddělení od matky, prokázal systémovou reakci cytokinů, zvýšenou permeabilitu střevní stěny včetně změn ve složení mikrobioty. Tento stav přispěl k větší náchylnosti GIT k infekčním i chemickým zánětlivým stimulům (Collins a Bercik, 2009). Studie provedené u makaků, kteří byli odděleni od matky, ukázaly snížení fekálních bakterií, hlavně laktobacilů, 3 dny po separaci, zároveň s výskytem chování podobného stresu. V tomto zranitelném období stres vede k prohloubení dysfunkce HPA osy a následně k výraznému snížení odolnosti proti různým chorobám (O'Mahony et al., 2015; Kelly et al., 2016).

Na střevní mikrobiotu okamžitě působí i uvolňování signálních molekul, cytokinů a antimikrobiálních peptidů (AMPs) do střevního lumen prostřednictvím neuronů, imunitních a endokrinních buněk přímou nebo nepřímou stimulací z CNS (Wang a Kasper, 2014).

## **4.2 Jak mikrobiom ovlivňuje mozek**

Mikrobiom ovlivňuje mozek prostřednictvím několika mechanismů a to nervovou, endokrinní, metabolickou a imunologickou cestou.

### **4.2.1 Nervový mechanismus**

Nervový mechanismus, pomocí kterého se přenáší informace ze střeva do mozku, probíhá skrz enterický nervový systém (ENS). Ten má na starost veškeré funkce GIT (Wang a Kasper, 2014). Bakteriální produkty, např. endotoxiny nebo zánětlivé cytokiny, jako interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) a tumor nekrotizující faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) mohou stimulovat

bloudivý nerv. Po této stimulaci dochází k potlačení uvolnění prozánětlivých cytokinů střevními makrofágy (Collins a Bercik, 2009). Ve studii provedené autory Hosoi et al. (2000) u hlodavců byla stanovována mRNA kortikoliberinu (CRF, zkratka je z anglického *corticotropine - releasing hormone*) v hypotalamu a také plazmatické hladiny adrenokortikotropního hormonu (ACTH) a kortikosteronu po vagové stimulaci. Dvě hodiny po této stimulaci byla zvýšena CRF-mRNA v hypotalamu a také plazmatické hladiny ACTH byly výrazně zvýšeny. Rovněž byly pozorovány zvýšené plazmatické hladiny kortikosteronu. Byl tedy prokázán vliv bloudivého nervu na aktivitu HPA osy (Dinan a Cryan, 2012).

#### 4.2.2 Endokrinní mechanismus

Co se týče endokrinního mechanismu působení, tak střevní mikrobiom má významné postavení ve vývoji i regulaci HPA osy. Enteroendokrinní buňky se nacházejí rozptýleně ve střevním epitelu. Tyto buňky mohou sekretovat hormony a další signální peptidy. Tato sekrece probíhá jako odpověď na jakýkoliv lumenální stimul (Wang a Kasper, 2014). Vedlejší produkty bakterií mají schopnost stimulovat enteroendokrinní buňky. Tyto buňky produkují několik různých peptidů (peptid YY, neuropeptid Y, cholecystokinin, glukagonu podobný peptid 1 a 2 a substanci P). Neuropeptidy jsou po sekreci uvolňovány skrz lamina propria. Dostávají se buď do krevního řečiště, nebo působí lokálně na senzitivní nervová zakončení. Není přesně známo, jestli neuropeptidy působí v komunikaci mikrobiota – CNS přímým mechanismem. Přímou komunikaci mezi enteroendokrinními buňkami a neurony inervujícími tenké a tlusté střevo popsali Bohorquez et al. (2015) pomocí tzv. neuroepiteliálního obvodu. Tento obvod může působit jako komunikační kanál přenášející zprávy z lumen do ENS a CNS i opačným směrem. Bylo zjištěno, že pokud se změní složení střevní mikrobioty, dojde ke změnám v neuropeptidech a neurotransmiterech. Jako příklad můžeme uvést mikrobiální dysbiózu indukovanou antibiotiky (ATB). Při této dysbióze byly zjištěny zvýšené hladiny substance P v tlustém střevě (El Aidy et al., 2015). Komenzálové mají schopnost produkovat velké množství neuroaktivních molekul, např. serotonin, gama – aminomáselnou kyselinu (GABA, z anglického *gamma-aminobutyric acid*), katecholaminy, melatonin, acetylcholin nebo histamin (Wang a Kasper, 2014). Tyto signální molekuly dokážou snížit zánět, zmírnit reakci na stres a také zlepšit náladu. Histamin a katecholaminy mo-

hou stimulovat ENS a CNS prostřednictvím aferentních vláken bloudivého nervu. Dopamin hraje určitou úlohu v řízení funkcí GIT, např. snížení motility. V CNS se uplatňuje při učení a tvorbě paměťových stop. Významnou úlohu má zejména při řízení emočních stavů a nálad. GABA ovlivňuje funkce GIT (motilitu, transport, sekreci). V CNS má významné postavení v emoční modulaci strachu a úzkosti (anxiolytický účinek). S tímto účinkem jsou spojeny GABA<sub>A</sub> receptory (Pokorný a Mourek, 2014). GABA je hlavním inhibičním neurotransmiterem v CNS a dysfunkce v GABA signalizaci jsou spojeny s úzkostí a depresí (Foster a McVey Neufeld, 2013). Cholecystokinin je další neuroaktivní molekula, která je důležitým hormonem GIT. Sekrece cholecystokininu se zvyšuje po jídle, ve vztahu se vznikem pocitu sytosti. Bývá součástí stresové reakce, při které dochází k jeho uvolňování a také při úzkostných stavech a strachu (Pokorný a Mourek, 2014).

#### **4.2.3 Metabolický mechanismus**

Tento mechanismus se zapojuje do signalizace mikrobiom – střevo – CNS. Hlavní funkcí mikrobiomu je usnadnění metabolismu hostitele. Střevní mikrobiota produkuje velké množství látek, které mohou modulovat funkce CNS. Můžeme sem zařadit mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFAs, z anglického *short chain fatty acids*) a to acetát, propionát a butyrát. Tyto kyseliny jsou energetickým zdrojem pro epitelové buňky tlustého střeva, také jsou vedlejším produktem fermentace rostlinných polysacharidů střevními mikroby. SCFAs mají protizánětlivé funkce, které indukují díky vazbě na specifický receptor spřažený s G-proteiny. Tyto prospěšné účinky nejsou omezeny pouze na střevo, ale SCFAs mají pozitivní vliv i na choroby, které jsou střevu vzdálené např. astma nebo artritida. Prospěšné funkce probíhají i přes inhibici histon deacetyláz, které indukují regulační T – lymfocyty (Treg buňky, dříve také supresorové T-lymfocyty) nebo potlačují produkci prozánětlivých cytokinů antigen prezentujícími buňkami. Dále se prokázalo, že ATP (adenosintrifosfát) pocházející z komenzálních bakterií podporuje indukci prozánětlivých Th17 buněk ve střevě. Th17 buňky mohou postupně osidlovat periferní imunitní orgány a tím ovlivňovat CNS – specifickou autoimunitu (Berer a Krishnamoorthy, 2014). Ve studiích prováděných in vitro u myši bylo zjištěno, že butyrát reguluje energetickou homeostázu, stimuluje produkci leptinu v adipocytech a vyvolává sekreci několika neuropeptidů (např. glukagonu-podobného peptidu 1). Díky

tomuto působení by mohla být ovlivňována sekrece inzulinu, metabolismus glukózy a lipidů a také příjem potravy. Butyrát má také protizánětlivé účinky a bylo zjištěno, že ovlivňuje chování a náladu. Díky těmto účinkům SCFAs zvyšují uvolňování serotoninu, což bylo potvrzeno studiiemi *in vitro*. Wang et al. (2012) popsali změny fekálních koncentrací SCFAs u dětí s poruchami autistického spektra. Změněná produkce těchto neuroaktivních peptidů mikrobiálního původu může představovat mechanismus, kterým mohou bakterie ovlivnit funkci mozku (El Aidy et al., 2015).

#### 4.2.4 Imunitní mechanismus

Poslední cestou realizující signalizaci střevo – mozek je imunitní mechanismus. Tato cesta je na CNS nezávislá (Wang a Kasper, 2014).

Hygienická teorie říká, že přehnaná čistota a snížené vystavení bakteriím způsobuje nesprávné fungování imunoregulačních mechanismů. Tyto mechanismy předcházejí nepřiměřeným reakcím T - lymfocytů a pozdějšímu výskytu autoimunních a zánětlivých onemocnění. Strachan (1989) zjistil, že zlepšením hygienických podmínek došlo ke snížení mikrobiologického zatížení a to mohlo způsobit zvýšený výskyt autoimunních nemocí (Icaza - Chávez, 2014).

Ve studii provedené Hansenem et al. (2012) byly použity bezmikrobní myši (GF myši, z anglického *germ - free*). Ve věku tří týdnů byly tyto myši kolonizovány mikrobiotou normálních myši. Výsledkem bylo trvale upravené složení střevní mikrobioty a také vývoj protizánětlivé imunitní odpovědi. To znamená, že bezmikrobní období krátce po narození má neblahé účinky na imunitu. Pokud ale dochází ke kolonizaci GF myši konvenční mikrobiotou v prvních týdnech života, tyto účinky nejsou pozorovány (Icaza - Chávez, 2014).

Imunitní systém hostitele je schopen rozpoznat a eliminovat patogeny (ne tělu vlastní látky) a zároveň tolerovat vlastní molekuly, které slouží k udržení homeostázy organismu. Imunitní systém je závislý na kolonizaci střevní mikrobiotou. Mikrobiota je důležitá pro jeho normální fungování (El Aidy et al., 2015).

Důležitou úlohou střevní mukózy je zprostředkování adaptivní imunity, protože se dostává do primárního kontaktu s velkým množstvím antigenů. Podílí se také na fylogeneticky děděné imunitě a reakci na specifické antigeny. Tyto specifické antigeny jsou s patogeny asociované molekulární vzory (PAMPs z anglického *pathogen – associated*

*molecular patterns*). V podstatě se jedná o evolučně zakonzervované struktury na povrchu bakterií a řadíme sem lipidy, lipopolysacharidy (LPS) a lipoproteiny, které jsou součástí bakteriální stěny. Pomocí příslušných receptorů rozpoznávajících tyto molekulové struktury (PRRs z anglického *pattern recognition receptors*) jsou rozpoznány PAMPs. Aktivované PRRs zajistí prostřednictvím antigen prezentujících buněk zvýšení produkce cytokinů a interferonů. Do skupiny PRRs se zahrnují i transmembránové Toll – like receptory (TLRs). Některé PAMPs ligandy těchto receptorů obsahují lipidy, které jsou nutné pro jejich agonistickou aktivitu. Dalším příkladem jsou bakteriální LPS (bakteriální endotoxiny), což jsou ligandy TLRs – 4. LPS představují důležitou komponentu buněčné stěny bakterií a mají schopnost indukce intenzivní vrozené imunitní odpovědi. TLRs jsou lokalizovány v buňkách, které jsou součástí vrozené imunity (makrofágy, epiteliální buňky, adipocyty). Také je ale nalezneme v buňkách získané imunity, a to v B - lymfocytech, T - lymfocytech a v dendritických buňkách. Dendritické buňky jsou lokalizovány v lamina propria a hrají důležitou roli při indukci získané imunity. Signalizace zprostředkovaná TLRs vede k indukci dendritických buněk a k následné produkci cytokinů (Icaza - Chávez, 2014). GF myš se vyznačuje sníženou reaktivitou Toll – like receptorů 2,4,5, v průběhu kolonizace se však jejich aktivita zvyšuje. Z toho lze usuzovat na vzájemné vztahy mezi těmito receptory a mikrobiotou (Collins a Bercik, 2009).

Při iniciální mikrobiální kolonizaci dochází ke změnám ve slizniční a systémové imunitě. Již ve fetálním období začíná zrání imunitního systému. Byly zaznamenány dysfunkce mnoha komponent imunitního systému v neonatálním období a raném dětství. U novorozenců byla pozorována snížená diferenciace dendritických buněk, narušená fagocytóza, dále i chybná interakce mezi dendritickými buňkami, T lymfocyty a Treg buňkami. Nedostatečnou odpověď získané humorální aktivity, zahrnující produkci IgA u lidských novorozenců, způsobuje potlačená aktivita transplacentárně přenesených IgA protilátek. Imunitní nezralost byla patrná i u GF myší, kdy v prvních dnech kolonizace byly identifikovány zmenšené Peyerovy pláty a snížení pomocných (CD 4+) a CD 8+ lymfocytů. Také množství plazmatických buněk a intraepiteliálních lymfocytů bylo sníženo, podobně jako hladiny sekrečního IgA (sIgA). SIgA má za úkol zabránit bakteriím jejich přemístění přes střevní bariéru (El Aidy et al., 2015).

CD 4+ lymfocyty mají pomocnou a indukční roli v sekreci imunoglobulinů, jiné T lymfocyty plní roli imunoregulatorů. B lymfocyty tvoří asi 40% lymfoidních buněk, produkují především IgA imunoglobuliny. Tyto imunoglobuliny jsou vylučovány

v podobě dimerů, jejich syntéza a sekrece patří mezi významné obranné imunitní mechanismy v GIT. Jejich hlavní funkcí je zabránění přilnutí bakterií k epiteliálním buňkám a předcházet kolonizaci a proliferaci těchto patogenů. Mezi další funkce IgA řadíme neutralizaci toxinů, inhibici virů a blokaci jejich transportu střevním epitelem (Závada, 2010). Mají také vliv na rovnováhu metabolických a imunitních cest ve střevních epiteliálních buňkách. Střevní mikrobiota mění expresi genů zahrnutých v metabolismu tuků a jeho uložení v přítomnosti IgA. Díky tomu mění homeostatickou mikrobiální - imunitní - metabolickou odpověď (El Aidy et al., 2015).

Náhlé posuny v dětství, které vyvolávají odpovědi genů spojených s chorobami (metabolické poruchy, behaviorální změny) mohou mít trvalé následky pro zdraví člověka (El Aidy et al., 2015).

Střevní mikrobiota v homeostatickém stavu stimuluje chronický nízko - úroňový stav aktivace vrozeného imunitního systému. Bakterie stimulují střevní makrofágy a T – lymfocyty. Tyto buňky produkují prozánětlivé cytokiny a zprostředkovávají bazální aktivaci imunitního systému na povrchu střevní sliznice, která případně může ovlivnit celé tělo (El Aidy et al., 2015).

## **5 PODÍL MIKROBIOMU NA METABOLISMU TRYPTOFANU A SYNTÉZE 5 – HYDROXYTRYPTAMINU**

Serotonin (5 – HT) funguje v ose střevo – mozek jako klíčová signální molekula, a to jak v ENS, tak i CNS. Bylo zjištěno, že střevní mikrobiom je významnou složkou této osy. Modulace složení střevní mikrobioty v průběhu života nebo měnící se osídlování mikroby na počátku života ovlivňuje dostupnost tryptofanu (O'Mahony et al., 2015).

### **5.1 Tryptofan**

Tryptofan si lidský organismus nedokáže vytvořit sám, musí být dodáván do těla v potravě. Po vstřebání ze střeva se dostává do krevního oběhu, kde se vyskytuje buď ve volné frakci, nebo navázaný na albuminy, obecně neprochází volně přes hematoencefa-

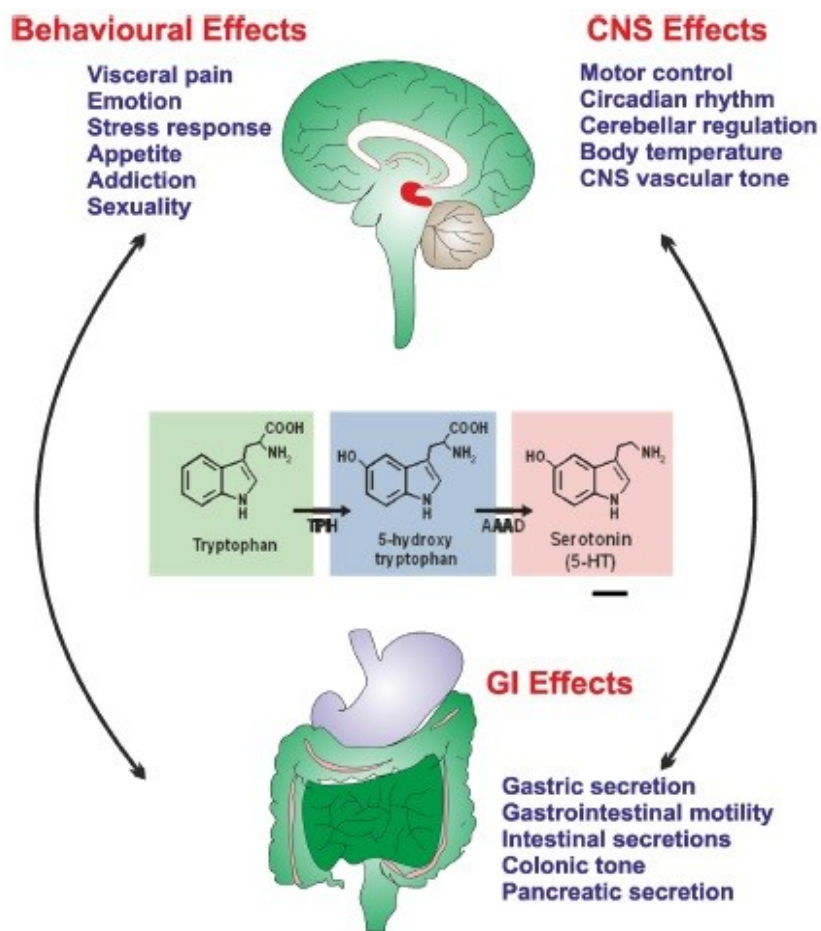
lickou bariéru, proto k jeho transportu slouží velké aminokyselinové transportéry. Tryptofan je prekurzorem 5 - HT, v této souvislosti je zajímavé zjištění, že největší množství serotoninu je syntetizováno z tryptofanu v enterochromafinních buňkách (EC) střevní sliznice (O'Mahony et al., 2015).

## **5.2 Serotonin**

5 - HT patří mezi neurotransmitery. Mimo svůj dobře známý synaptický účinek má navíc parakrinní i endokrinní účinky, které se uplatňují často právě v GIT. Je zde využíván hlavně při kontrole sekrece a motility neurony ENS. Hladina 5 - HT stoupá po jídle a může se měnit v závislosti na potravě, přesněji řečeno na aktuální dostupnosti v potravě obsaženého tryptofanu (Pokorný a Mourek, 2014). V GIT zprostředkovává řadu funkcí, jako sekreci, vasodilataci, peristaltiku, vnímání bolesti a nevolnosti, to vše prostřednictvím aktivace 5 – HT receptorů. Tyto receptory se nacházejí na vnitřních i vnějších aferentních nervových vláknech (O'Mahony et al., 2015).

## **5.3 Syntéza serotoninu**

Nejprve se tryptofan pomocí tryptofan-hydroxylázy (TPH) přemění na 5 - hydroxytryptofan (5 - HTP). Tento prekurzor se konvertuje působením dekarboxylázy aromatických aminokyselin (AAAD) na 5 - hydroxytryptamin (5 - HT). Při studiu syntézy 5 - HT a také jeho zdrojů v průběhu embryonálního vývoje se zjistilo, že tento neurotransmitter by mohl působit jako regulátor růstu v různých vývojových stádiích ontogeneze (O'Mahony et al., 2015).



**Obrázek 3. Osa střevo – mozek a serotonin.** Převzato z O'Mahony et al., 2015.

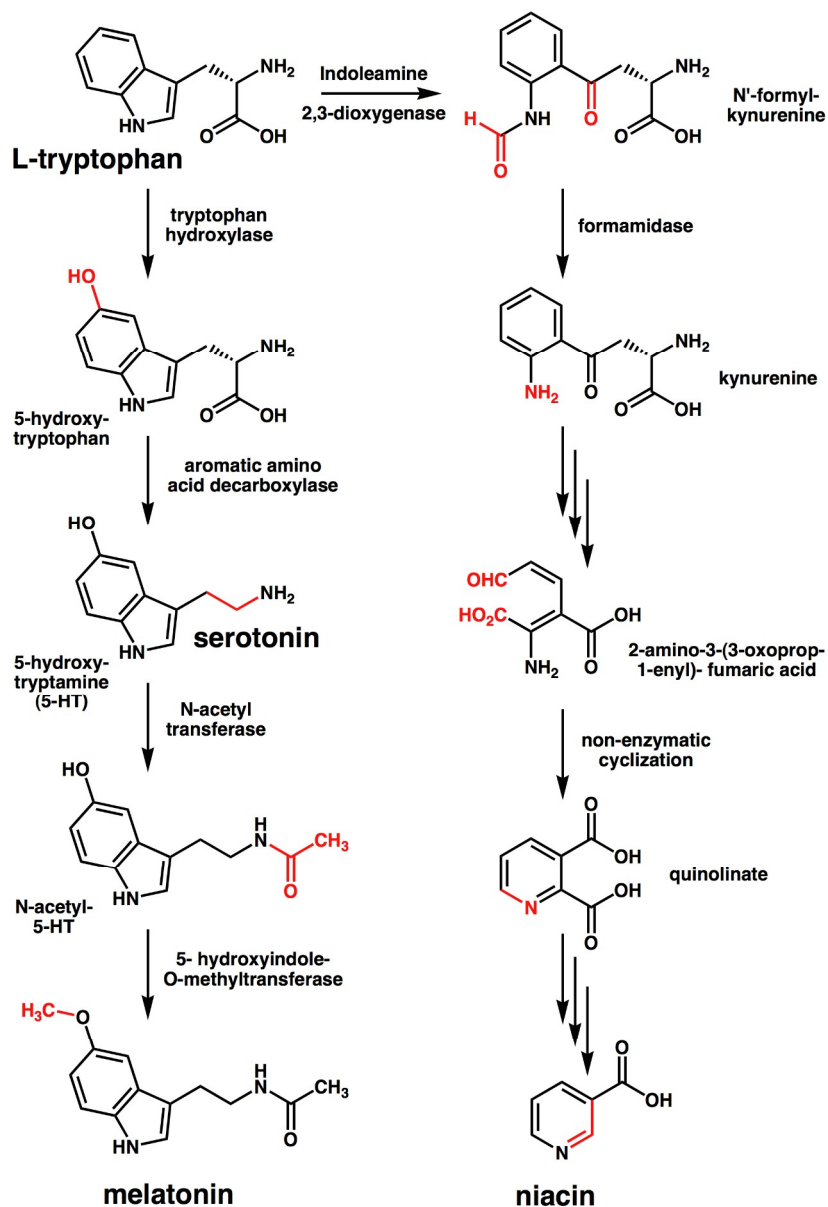
Bližší popis v textu.

Serotonin hraje důležitou roli v obousměrné komunikaci mezi mozkem a GIT. Prekurzor serotoninu tryptofan je konvertován pomocí enzymu tryptofan – hydroxylázy (TPH) na 5 – hydroxytryptofan. Dále je pomocí dekarboxylázy aromatických aminokyselin (AAAD) přeměněn na serotonin (5 – HT). 5 – HT ovlivňuje mnoho funkcí jako například sekreci GIT, motilitu GIT, sekreci pankreatu, ale také působí na CNS, kde ovlivňuje cirkadiánní rytmy, regulaci mozečku, tělesnou teplotu. Ovlivňuje i emoce, odpověď na stres, chuť atd. (obr. 3).



## 5.4 Metabolismus tryptofanu

Hlavní metabolická cesta tryptofanu probíhá přes kynureninovou dráhu. Z tryptofanu se působením tryptofan - 2, 3 - dioxygenázy (TDO), vyskytující se hlavně v játrech, nebo pomocí běžně se vyskytující indolamin - 2, 3 - dioxygenázy (IDO) syntetizuje kynurenin. Kynurenin je poté metabolizován dvěma různými cestami. První z nich vede k syntéze kyseliny kynurenové, což je antagonist NMDA receptorů s neuroprotektivními vlastnostmi. A druhou cestou z kynureninu vzniká kyselina chinolinová, která je naopak neurotoxická (účinkuje jako agonista NMDA receptorů). V některých studiích se ale zjistilo, že kyselina kynurenová může při zvýšených hladinách také navodit kognitivní poruchy. Kynurenin je schopen, na rozdíl od 5 - HT, procházet přes hematoencefalickou bariéru a účastnit se syntézy uvedených aktivních metabolitů v CNS. Zvýšení plazmatické hladiny kynureninu může tedy mít těžko předvídatelný dopad na CNS (O'Mahony et al., 2015). U vnímavých skupin obyvatelstva snížení plazmatické koncentrace tryptofanu může způsobit změny nálad, prodloužení doby zotavení se z nemoci a navíc u lidí s depresí, kteří uspokojivě reagovali na léčbu SSRI (selektivní inhibitory zpětného příjmu serotoninu), se může nečekaně objevit relaps (O'Mahony et al., 2015).



**Obrázek 4. Syntéza serotoninu a metabolismus tryptofanu.**

Převzato z [wikimedia.org/wiki](https://wikimedia.org/wiki)

Vlevo je znázorněna syntéza serotoninu z tryptofanu. Popis syntézy serotoninu viz obrázek 3. Vpravo je znázorněn metabolismus tryptofanu, kdy z tryptofanu pomocí enzymu indolamin - 2, 3 - dioxygenázy vzniká N'-formylkynurenin. Ten se pomocí enzymu formamidázy přemění na kynurenin. Z kynureninu poté vzniká 2 - amino - 3 - (oxoprop-1-enyl) - fumarová kyselina. Dále neenzymatickou cyklizací vzniká kyselina chinolinová. Posledním krokem kynureninové dráhy je vznik niacinu, což je hypolipidemikum.

## 5.5 Regulace tryptofanového metabolismu a syntézy serotoninu

### 5.5.1 Nepřímá mikrobiální regulace

Tato regulace pomáhá při ovlivňování tryptofanové dostupnosti a syntézy 5 - HT prostřednictvím střevní mikrobioty, a to pomocí enzymů, které mají za úkol konverzi tryptofanu po kynureninové dráze. K lepšímu prozkoumání vlivu mikrobioty na dostupnost tryptofanu a syntézu 5 - HT jsou používána GF zvířata (nejčastěji myši). U nich byly obecně zjištěny vyšší plazmatické koncentrace tryptofanu, které se po bakteriální kolonizaci myši dostávají do rozmezí normy, a to ihned po odstavení. U myši konvenčních chovů jsou hladiny jak tryptofanu, tak 5 - HT ve srovnání s bezmikrobními zvířaty nižší. Za jak dlouho je účinná kolonizace bezmikrobních myší, to se v různých studiích liší. Některá studie tvrdí, že zvýšené hladiny tryptofanu byly sníženy již za čtyři dny po kolonizaci. Kromě měření hladin tryptofanu je možné zkoumat poměr kynurenin:tryptofan (používaný jako aktivita enzymů IDO a TDO). Změněná aktivita těchto enzymů může vést k různým poruchám. Například u syndromu dráždivého tračníku (IBS, z anglického *irritable bowel syndrome*) se často vyskytují změny v serotoninergním systému ve střevě i v mozku. Zvýšená aktivita IDO nesouvisí s pohlavím, byla zjištěna u ženské i mužské populace (O'Mahony et al., 2015).

### 5.5.2 Přímá mikrobiální regulace

Střevní mikrobiota je schopna využít tryptofan přímou cestou a díky tomu snižuje jeho dostupnost pro organismus. Některé bakterie produkují enzym tryptofanázu, která je schopna přeměnit tryptofan na indol, je to například *Bacteroides fragilis*, která byla nedávno zmiňována v souvislosti s gastrointestinálními abnormalitami u poruchy autistického spektra. Pro tryptofanovou dostupnost, ať již lokální či systémovou, je důležitá schopnost bakteriální odpovědi na zvýšený příjem tryptofanu a serotoninu v potravě. Například grampozitivní bakterie jsou více citlivé k serotoninergním lékům, které jsou podávány do organismu (O'Mahony et al., 2015).

## 5.6 Vývoj osy mozek – střevo a serotoninergního systému v průběhu života

Na modelu TPH2 knockoutové myši (s provedenou inaktivací genu tryptofanhydroxylázy 2) bylo zjištěno, že nedostatek 5-HT v CNS vede ke zpomalení jejich tělesného růstu a negativně ovlivňuje vývoj mozku. Mozek se stává zranitelnější k rozvoji neurovývojových poruch. Pořadí vývojových etap CNS je u všech savčích druhů obdobné, ale liší se pochopitelně v čase. U lidí vrcholí růst mozku kolem porodu. U hlodavců je to až sedmý den po porodu. Hematoencefalická bariéra (BBB, z anglického *blood brain barrier*) je sice částečně funkční již při narození, ale její struktura je velice křehká, proto je tento mozek ve srovnání s mozkem dospělého jedince více náchylný k případným toxinům cirkulujícím v krvi. Po narození je dítě vystaveno nejrozličnějším vlivům, různé výživě apod. Ty mohou přímou nebo nepřímou cestou ovlivnit metabolickou schopnost střevního mikrobiomu (O'Mahony et al., 2015).

Centrální serotoninergní systém vychází z rafeálních jader, která se nacházejí v periaqueductální šedé hmotě mozku kmene. Neurony tohoto systému vytvářejí v jednotlivých etážích mozku jedno z nejhustších dendritických větvení vůbec a významně se podílejí zejména na modulaci spánku, nálady a kontrole impulzivního chování. Ve studiích prováděných na zvířatech bylo zjištěno, že zpětné vychytávání 5-HT je vyšší v synapsích u vyvíjejícího se mozku v porovnání s hodnotami u dospělých jedinců. U lidí je tento průběh poněkud odlišný, ke zvýšení dochází v intervalu od tří do osmnácti let, pak následuje pokles přibližně o 10 % za každých deset let. Hladiny 5-HT se na této obecně nižší úrovni relativně stabilizují v průběhu normálního stárnutí, ale počet serotoninových receptorů je v té době snížen o 30 až 50 %. Zjistilo se, že bakterie, které kolonizují střevo brzy po narození, jsou nepostradatelné pro správný vývoj centrálního serotoninergního systému (O'Mahony et al., 2015).

ENS sám o sobě představuje po neurochemické stránce nejvíce různorodou složku periferního nervového systému. Dospělé buňky ENS procházejí v průběhu života změnami, nejvíce pak ihned po porodu. U seniorů se běžně vyskytují gastrointestinální dysfunkce, které mohou být způsobeny enterickou degenerací a ztrátou neuronů, a to v souvislosti se stárnutím, tedy obdoba procesů ve stárnoucím mozku (O'Mahony et al., 2015).

## 6 ÚLOHA MIKROBIOMU PŘI PORUCHÁCH NÁLADY

Postnatální období je kritická doba, během které může být ovlivněn vývoj mozku prostřednictvím komunikace střevo – mozek, to může zapříčinit pozdější rozvoj duševních nemocí. Toto období je také významné pro správný vývoj metabolických funkcí. Ve studiích, které byly prováděny na myších, bylo zjištěno, že podáváním nízkých dávek ATB od narození do odstavení se mění metabolické funkce, tyto změny přetrvávají i v období dospělosti. Z toho vyplývá, že od narození do odstavení je organismus více náchylný k střevní dysbióze (Luna a Foster, 2015).

Mechanismy, kterými mikrobiota ovlivňuje chování, nejsou přesně objasněny, ale velmi pravděpodobně bude docházet v různém poměru k vzájemnému propojení humorálních, nervových a imunitních dějů (Collins a Bercik, 2009). Studie prováděné pomocí GF myši ukázaly, že úplná absence střevní mikrobioty může významně ovlivňovat funkci neuromediátorů a chování (Marques et al., 2014).

Serotonergní systém je považován za hlavního činitele v mechanismech patogeneze poruch nálady (Foster a McVey Neufeld, 2013). Bylo zjištěno, že dysregulace serotonergní a kynureninové dráhy tryptofanového metabolismu může přispět k rozvoji neurodegenerativních procesů u demence, zejména Alzheimerovy choroby atd. Odtud vychází dosud klinicky nepotvrzený předpoklad, že léčba probiotiky by mohla prostřednictvím snížení hladiny kynureninu zlepšit tyto patologické stavy (Wang a Kasper, 2014).

Na mozkových poruchách se podílí střevní mikrobiota prostřednictvím modulace imunitní odpovědi hostitele. Patogenní střevní mikrobiota, stejně jako jejich metabolity, mají schopnost indukovat sekreci prozánětlivých cytokinů střevními dendritickými a epiteliálními buňkami a makrofágy. Ukazuje se, že různé neuropsychiatrické poruchy (deprese, úzkost, schizofrenie, poruchy autistického spektra) se vyznačují zvýšenými krevními hladinami cytokinů (Li a Zhou, 2016).

Bloudivý nerv má důležité postavení v přenosu signálů z GIT do mozku (Collins a Bercik, 2009; Dinan a Cryan, 2012). K jeho stimulaci může docházet prostřednictvím bakteriálních produktů (endotoxiny, zánětlivé cytokiny (IL - 1 $\beta$ , TNF  $\alpha$ ). Stimulací vagu dochází k potlačení uvolnění prozánětlivých cytokinů střevními makrofágy. Přítomnost neinvazivních patogenů v organismu je rychle signalizována do mozku. Zvýší se aktivita jader bloudivého nervu v mozkovém kmeni a objevuje se úzkostné chování u myši

(Collins a Bercik, 2009). Potvrdilo se, že změny v chování mohou být ovlivněny i prostřednictvím bloudivého nervu, u vagotomizovaných myší nebyly uvedené změny v chování pozorovány (Foster a McVey Neufeld, 2013).

## 6.1 Úzkost a stres

Mezi běžné poruchy nálady řadíme úzkost a stres. Pokud je organismus vystaven stresorům (chemickým, biologickým, environmentálním), může dojít k spuštění stresové a úzkostné reakce, což znamená aktivaci HPA osy (Wang a Kasper, 2014). HPA osa je považována za ústředí endokrinního stresového systému a jsou známy interakce probíhající mezi stresem, HPA osou a imunitním systémem. Ukázalo se, že tyto interakce mohou být zprostředkovány střevní mikrobiotou (Kelly et al., 2016). U různých typů intestinální dysfunkce byly zároveň vnímány stavy úzkosti a stresu (Wang a Kasper, 2014). Například u IBS se mohou vyskytnout poruchy související se stresem (deprese, úzkost). Bylo prokázáno, že psychosociální stres na počátku života významně ovlivňuje funkce GIT, ať již fyziologické či patologické v dospělosti (Bravo et al., 2012).

Stres je definován jako stav, kdy je ohrožena homeostáza organismu. Může být psychický i fyzický (Kelly et al., 2016). Je známo, že reakce na stres není funkční při narození a její nastavení postupně pokračuje v celém postnatálním období. Při samotném stresu dochází k ovlivnění střevní propustnosti, bakterie mohou snáze prostoupit střevní sliznicí (Foster a McVey Neufeld, 2013). Stres má schopnost přetvořit složení střevní mikrobioty. Sociální deprivace pokusných myší způsobila posměnění složení střevní mikrobioty a zvýšení hladiny prozánětlivého cytokinu interleukinu 6 (IL – 6, Kelly et al., 2016).

Bylo prokázáno, že psychická zátěž může zvýšit permeabilitu střevní stěny. Za této situace je bakteriím a bakteriálním antigenům umožněno snadněji prostupovat střevní bariérou. Dochází k aktivaci slizniční imunitní odpovědi, syntetizují se prozánětlivé cytokiny a může docházet k aktivaci HPA osy. Ukazuje se, že pokud nejsou v průběhu embryogeneze cytokiny matky v rovnováze, může dojít k narušení vývoje mozku dítěte a poruchám chování. Tato dysbalance cytokinů může být způsobena stresem, infekcí, či podvýživou matky. Jednou z úloh cytokinů v mozku je účast na mechanismech přežití a zániku nervových buněk, růstu dendritů a axonů, tvorbě synapsí aj. Prozánětlivé cyto-

kiny jsou zodpovědné za zvýšenou propustnost hematoencefalické bariéry, která se tak stává prostupnější pro další potenciálně patogenní látky (Pokorný a Mourek, 2014).

V několika studiích byl zkoumán vliv mikrobioty na reakci HPA osy za použití GF myši. Tyto GF myši obecně vykazují zvýšenou aktivitu HPA osy projevující se zvýšeným uvolňováním ACTH a kortikosteronu. Tyto hodnoty byly částečně sníženy po kolonizaci fekální mikrobiotou SPF (*specific pathogen free*) skupiny, nebo byly dokonce zcela upraveny na původní stav kolonizací *Bifidobacterium infantis* (Bravo et al., 2012; Marques et al., 2014). Kromě nadměrného uvolňování hormonů došlo u těchto myši ve srovnání s kontrolní skupinou ke snížené expresi podjednotek NMDA receptorů v mozkové kůře a hipokampu (Collins a Bercik, 2009; Bravo et al., 2012).

Bylo prokázáno, že po aktivaci HPA osy dochází ke změnám v serotoninergním systému mozku. Oddělení od matky vedlo ke změnám v metabolismu 5 – HT a k oslabení exprese serotoninových receptorů v různých oblastech mozku. Tyto změny se však netýkají pouze mozku, ale celé osy mozek – střevo. K vyvážené funkčnosti systému 5 – HT, který mimo jiné reguluje i chování, je zapotřebí bezstresové a přívětivé prostředí (O'Mahony et al., 2015).

Střevní mikrobiota neovlivňuje CNS jen prostřednictvím modulace HPA osy, ale i přímo přes neuronovou aktivaci stresových obvodů. Bylo objeveno, že infekce způsobená *Campylobacter jejuni* zvyšuje úzkostné chování u zdravých myši, a to díky indukci c- Fos proteinu (Bravo et al., 2012; Wang a Kasper, 2014). Tento protein je neuronální aktivační marker jak v CNS, tak i v autonomním nervovém systému (ANS, Wang a Kasper, 2014). Také u infekce vyvolané *Citrobacter rodentium* bylo patrné zhoršení úzkostného chování opět indukci c – Fos proteinu (Bravo et al., 2012; Wang a Kasper, 2014). K těmto změnám však dochází pouze hodiny po infekci. Z toho vyplývá, že změny ve střevní mikrobiotě mohou alespoň některé biochemické děje v CNS indukovat poměrně rychle (Bravo et al., 2012; Foster a McVey Neufeld, 2013). Uvedená studie poskytla rovněž důkaz, že střevní mikrobiota může aktivovat stresové obvody prostřednictvím stimulace bloudivého nervu.

V další studii byly myši konvenčního chovu infikovány *Helicobacterem pylori*. I zde bylo pozorováno úzkostné chování. Mechanismy způsobující tyto změny nejsou prozatím známy, ale uvažuje se o přetrvávající imunitní aktivaci jako odpovědi na infekci. Úzkostné chování přetrvávalo ještě dlouho po eradikaci, znovuobnovení stavu před in-

fekcí bylo docíleno podáním *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus helveticus* (Collins a Bercik, 2009).

Ve studii, kdy dospělým SPF Balb/c (nejpoužívanější kmen inbredních myší) myším samcům byla týden podávána směs ATB (neomycin 5 mg/ml a bacitracin 5 mg/ml) a také antifungální látka pimarin, docházelo ke zvýšení pátrací aktivity a potlačení úzkostného chování. Během této doby byla zaznamenána značná změna ve složení mikrobioty. Po dvou týdnech dochází k obnovení mikrobioty a také k navrácení chování do původního stavu (Collins a Bercik, 2009; Foster a McVey Neufeld, 2013). Z toho vyplývá, že změny v chování nastaly pravděpodobněji prostřednictvím změn v mikrobiotě než v důsledku vlastní léčby (Foster a McVey Neufeld, 2013). Po potlačení mikrobioty se snížily strach a úzkost a naopak se prodloužil čas prozkoumávání světelného boxu ve srovnání s kontrolními myšmi (Collins a Bercik, 2009; Bravo et al., 2012; Dinan a Cryan, 2012).

Bercik, Denou et al. (2011) využili antibiotickou léčbu k získání bližších informací o ose mikrobiota – střevo – mozek. Léčba ATB trvala jeden týden, během této doby došlo k ovlivnění střevního bakteriálního složení u myší. Bylo zde patrné zvýšení hladin *Firmicutes* a *Actinobacteria* a pokles množství gramnegativních kmenů *Proteobacteria* a *Bacteroidetes*. Tyto změny v mikrobiotě vedly ke zvýšení pátrací aktivity ve skupině konvenčních myší léčených ATB. Skupina GF myší nebyla ATB léčbou ovlivněna (Marques et al., 2014).

Podle Collinse a Bercika (2009) mohou být bakterie GIT potenciálním zdrojem faktoru S (z angl. *sleep* = spánek) indukujícího spánek a pocházejícího z buněčné stěny bakterií. Je známo, že při ATB léčbě mohou být jak struktura, tak stadia spánku narušeny.

Úzkost může být ovlivněna i složením diety. Bylo zjištěno, že dlouhodobá konzumace stravy s vysokým obsahem tuku zvyšuje u SPF myší úzkostné chování. GF myši mající drobnější tělesnou konstituci než SPF myši navzdory zvýšenému příjmu potravy obdobný nárůst úzkostného chování nevykazovaly. Důvodem mohou být metabolické změny doprovázející nepřítomnost mikrobioty. U GF myší byly totiž zjištěny zvýšené hladiny půstem indukovaného tukového faktoru (Fiaf, z anglického *fasting – induced adipose factor*). Naopak u SPF myší byly zjištěny nízké hladiny Fiaf. Fiaf je inhibitor lipoproteinové lipázy. V dospělosti jsou pozorovány u GF myší snížené plazmatické hladiny inzulínu, leptinu a glukózy. Tyto myši jsou odolné k obezitě, která nastává díky



vysokému obsahu tuku v potravě. Byl proveden pokus, kdy byla přenesena mikrobiota z myši, které byly krmeny potravou s vysokým obsahem tuku do myši, kterým byly podávány antibiotika dva týdny, čímž se výrazně snížila rozmanitost mikrobioty. Díky tomuto přenosu došlo ke zvýšenému úzkostnému chování. U myši, kteří se staly příjemci této mikrobioty, byla zjištěna zvýšená střevní propustnost a zvýšení zánětlivých markerů (Luna a Foster, 2015).

## 6.2 Deprese

Deprese je jednou z hlavních poruch nálad. Ty vznikají buď neuropsychiatrickými poruchami, neuroendokrinní nebo i imunitní dysregulací (Wang a Kasper, 2014). Deprese představuje 10 % všech zdravotních poruch lidské populace. Uvádí se, že depresivními poruchami celosvětově trpí až 121 miliónů lidí. Světová zdravotnická organizace předpovídá, že do roku 2020 se deprese stane druhou hlavní příčinou celkové nemocnosti na světě. Typický je cyklický průběh tohoto onemocnění a riziko relapsu se zvyšuje s přetrvávajícími „zbytkovými“ příznaky v období remise. Zvýšená frekvence relapsů předznamenává delší a těžší průběh deprese. První epizody často nastávají v souvislosti se stresujícími životními událostmi, které tak mohou představovat spouštěče této poruchy. Pokud je jedinec vystaven stresu v raném věku, zvyšuje se riziko vzniku deprese v pozdějším životě. Na samotnou depresi lze nahlížet jako na kombinaci narušených regulací v neuroendokrinním, imunitním, metabolickém a neurotransmiterovém systému. Recentní preklinické studie naznačují, že přinejmenším některé z těchto procesů mohou být modulovány střevní mikrobiotou, případně jejími změnami. Určitým metodologickým problémem těchto studií je však fakt, že nelze vždy odlišit úzkost od deprese (Kelly et al., 2016).

Je známo, že úzkost a deprese je spjata i s poruchou GABA signalizace v CNS. Některé kmeny bakterií, např. *Lactobacillus* a *Bifidobacteria*, mohou syntetizovat GABA z glutamátu. Zjistilo se, že *Lactobacillus rhamnosus* snižuje úzkostné a depresivní chování a zároveň zvyšuje hladiny GABA v hipokampu (Dinan et al., 2013; Kelly et al., 2016).

Zvýšená incidence deprese se může vyskytovat u Crohnovy nemoci nebo ulcerózní kolitidy. Bylo prokázáno, že stres může zhoršit průběh onemocnění, také deprese může vyvolat vyšší reaktivitu na zánětlivé stimuly (Collins a Bercik, 2009).

Epizody deprese souvisejí s hyperaktivitou HPA osy. Ukázalo se, že střevní mikrobiota má významnou úlohu v programování této osy v rané fázi života, ale obecně i ve stresové reaktivitě v průběhu celého života. Při využití separace od matky u potkanů se zjistilo, že takto navozený stres způsobuje dlouhodobé změny ve stresové reaktivitě i v samotném chování (Foster a McVey Neufeld, 2013). Je tedy jasné, že přítomnost střevní mikrobioty v raném stadiu života je velmi důležitá pro správný vývoj mozku, naopak nepřítomnost střevních bakterií při vývoji může negativně ovlivnit HPA osu (Bravo et al., 2012).

U depresivních pacientů bylo pozorováno menší zastoupení kmene *Bacteroidetes* a také rodiny *Lachnospiraceae*. Bylo prokázáno, že v případě zvýšení střevní permeability a následné bakteriální translokaci může u depresivních pacientů docházet k zesílení zánětlivých projevů v GIT (Luna a Foster, 2015). Tomu odpovídá i existence zvýšené hladiny zánětlivých biomarkerů, konkrétně IL – 6, TNF- $\alpha$ , C-reaktivního proteinu (Dinan et al., 2013).

Studie provedená Maesem et al. (2008) naznačuje možnost, že dysfunkce střevní sliznice vyvolaná stresem zvyšuje translokaci gramnegativních bakterií. Tyto bakterie mohou vyvolat větší aktivitu HPA osy, a tím podporovat rozvoj deprese (Dinan a Cryan, 2012). U depresivních pacientů byly zjištěny významně vyšší sérové koncentrace IgM (imunoglobulin M) a IgA proti lipopolysacharidu (LPS) gramnegativních bakterií (*Pseudomonas aeruginosa*, *Morganella morganii* a další) ve srovnání se zdravými kontrolami (Dinan a Cryan, 2012; Luna a Foster, 2015; Kelly et al., 2016). Pokud byly nalezeny vyšší hladiny, objevovaly se symptomy jako únava, gastrointestinální symptomy aj. Je pravděpodobné, že zvýšená translokace gramnegativních bakterií zesiluje imunitní reakci (Dinan a Cryan, 2012).

Některé studie prokázaly, že deprese bývá spojena se sníženými hladinami mozko-vého neurotrofního faktoru (BDNF, z anglického *brain – derived neurotrophic factor*, Collins a Bercik, 2009; Bravo et al., 2012; Kelly et al., 2016). BDNF patří mezi členy neurotrofní rodiny, má vliv na řadu procesů, zejména na přežití a diferenciaci neuronů, dále tvorbu funkčních synapsí a neuroplasticitu v průběhu celého života. Snížení hipokampální BDNF mRNA je spojeno s úzkostným chováním a depresí (Foster a McVey Neufeld, 2013). Úlohou BDNF je zřejmě i úprava nálady a podpora kognitivních funkcí (Collins a Bercik, 2009). Obecně lze říci, že vysoké hladiny hipokampálního BDNF jsou spojeny s antidepresivním a anxiolytickým chováním. U pacientů trpících depresí

naopak nacházíme snížené hladiny BDNF. Podávání antidepresiv pravděpodobně podporuje procesy neurogeneze v dospělém hipokampu prostřednictvím BDNF. Clarke et al. (2012) a Heijtz et al. (2011) zjistili u GF myši nižší hipokampální expresi BDNF mRNA doprovázenou úzkostným chováním. U samců GF myši byly pozorovány vyšší hladiny 5 – HT a tryptofanu bez průvodního zvýšení hladiny BDNF, které bylo pozorováno u antidepresivní léčby (Marques et al., 2014). Je tedy možné, že změny BDNF jsou závislé na pohlaví a jsou spojeny pouze se samci (Foster a McVey Neufeld, 2013; Marques et al., 2014). Z toho vyplývá, že sexuální hormony mohou být nějakým způsobem zapojeny do těchto dějů (Marques et al., 2014).

Heijtz et al. (2011) zjistili v mozcích GF myši ve srovnání se zvířaty konvenčního chovu zvýšený obrat monoaminů, snížení indukce BDNF a genové změny důležitých biochemických drah (cyklus kyseliny citronové, metabolismus steroidních hormonů, cAMP signalizace a další, Bravo et al., 2012).

U myši, které byly infikovány *Citrobacterem rodentium*, bylo zjištěno zhoršení paměti vyvolané stresem za současného snížení hladin BDNF v hipokampu. Zároveň došlo ke zvýšení sérového kortikosteronu a byly identifikovány změny složení mikrobioty (Marques et al., 2014).

### **6.3 Porucha autistického spektra**

Porucha autistického spektra (ASD, z anglického *autism spectrum disorder*) zahrnuje řadu neurovývojových poruch. Pro tyto poruchy bývají charakteristické výpadky v kognitivních a sociálních funkcích. U jedinců, kteří mají ASD se vyskytují nejrůznější problémy, ať už se jedná o obtíže v komunikačních dovednostech, sociální interakci, tak i omezené zájmy a stereotypie. Tyto hlavní projevy jsou často spojeny i s mentálním postižením, poruchami spánku a symptomy od GIT. ASD bývá zpravidla diagnostikována u dětí v rozmezí od jednoho do tří let věku. Jedinci trpící ASD jsou odkázáni na celoživotní léčbu a přiměřené edukační zásahy (Li a Zhou, 2016).

Na vzniku a vývoji ASD se podílí celá řada faktorů včetně genetických i environmentálních. Do etiologie ASD je zapojeno více než 100 genů. Pokud dojde k selhání některého z těchto genů, může dojít k poruchám vývoje CNS i ENS. Mezi environmentální faktory, které přispívají k rozvoji ASD, patří oxidativní stres, fyzická kondice a také střevní bakterie. Jak už bylo zmíněno výše, neurovývojové poruchy jsou spojeny

s GIT symptomy (nadýmání, průjem, bolesti břišní krajiny). U dětí trpících ASD byly identifikovány změny ve složení střevní mikrobioty a také změny v metabolismu. Narušení střevní mikrobioty, zasahující do vývoje mozku a mozkové aktivity, může přispět k behaviorálním deficitům vyskytujícím se u ASD (Li a Zhou, 2016).

Narůstající počet studií potvrzuje vliv osy mikrobiota – střevo – mozek na výskyt a rozvoj ASD. Případným terapeutickým cílem pro léčbu ASD by měla být i snaha o obnovení rovnováhy této osy např. vhodnými dietními opatřeními (Li a Zhou, 2016). U dětí s ASD bylo zjištěno, že jsou šestkrát až osmkrát náchylnější k střevním symptomům, jako je nadýmání, průjem a zácpa v porovnání s kontrolními skupinami zdravých dětí. Tyto symptomy jsou obvykle spojeny s úzkostí a zvýšenou až přehnanou reaktivitou na zrakové a sluchové podněty. Vlastní příčina těchto projevů není jasná. Studie, kde byl použit myší model ASD (indukce ASD prenatálním podáváním kyseliny valproové), ukázaly neutrofilní infiltraci a snížení počtu luminálních epiteliálních buněk. Tyto změny byly spojeny se vzestupem hladin prozánětlivých markerů a sníženými hladinami mozkového serotoninu (Li a Zhou, 2016).

Změny ve složení střevní mikrobioty byly potvrzeny v klinické studii, kdy byly navzájem srovnávány děti trpící ASD s kontrolními subjekty a typicky se vyvíjejícími sourozenci. Bylo zjištěno, že u dětí s ASD je zvýšený počet *Sutterella spp.* ve srovnání s kontrolami. Počet *Ruminococcus torques* je zvýšený u ASD dětí s funkčními poruchami GIT více než u dětí, které tyto obtíže nemají. V další studii byla zjištěna vyšší hladina *Bacteroidetes* u dětí s ASD a naopak vyšší hladina *Firmicutes* u kontrolní skupiny. Z uvedeného vyplývá, že jak genetické, tak i environmentální faktory přispívají k narušení střevní mikrobioty u tohoto onemocnění (Li a Zhou, 2016). U dětí s ASD byly dále zaznamenány nižší hladiny *Bifidobacter* species a naopak vyšší hladiny *Lactobaccillus* species a *Bacteroidetes* (Nemani et al., 2015).

Jednou ze složek, která může poměrně snadno přestupovat přes BBB a ovlivňovat tak přímo aktivitu mozku, jsou SCFAs. Ukazuje se, že děti s ASD mají obecně mnohem nižší hladiny všech SCFAs, to znamená kyseliny octové, propionové kyseliny (PPA), kyseliny máselné (BA). Na ovlivnění samotné hladiny SCFAs se ale podílí více faktorů, ke kterým musíme přihlídnout, a to je nejen množství bakterií produkujících SCFAs, ale i příjem léků, podíl vlákniny v potravě atd. PPA produkují např. bakterie rodu *Propionibacterium* jako konečný produkt svého anaerobního metabolismu, v lidském organismu PPA vzniká štěpením mastných kyselin obsahujících sudý počet uhlíkatých ato-

mů a také některých aminokyselin. Expozice myši účinkům PPA narušuje jejich sociální chování jak v neonatálním období, tak i v dospělosti, přitom nezáleží na způsobu podání. Pokud je v organismu nadbytečné množství PPA, může se dostat do krevního oběhu a poté přes BBB do mozku, kde dochází ke kumulaci uvnitř neuronů. To vyvolává intracelulární acidózu a změní se uvolňování neurotransmiterů a následně i nervová aktivita. U myši byly po podání PPA a BA zaznamenány změny v genové expresi spojené se zánětem, změnou mitochondriálních funkcí a oxidativním stresem. Všechny tyto změny jsou přítomné i u ASD (Li a Zhou, 2016).

Většina pacientů s ASD v minulosti užívala značné množství antibiotik. Je známo, že orální ATB narušují prospěšnou střevní mikrobiotu a způsobují luminální proliferaci anaerobních bakterií (Li a Zhou, 2016). Tyto bakterie mohou zesilovat GIT symptomy a podporovat autistické chování u ASD. Jedná se zejména o *Clostridia*, *Bacteroidetes* a *Desulfovibrio*. Nejen tyto bakterie, ale i jejich metabolity mohou pak přímo přispívat k symptomům vyskytujícím se u ASD. Například *Clostridium tetani* produkuje tetanový neurotoxin (TeNT). TeNT způsobuje narušení uvolňování neurotransmiterů, které vede k poruchám chování pozorovaných právě u ASD. Dalším příkladem může být *Desulfovibrio*. Jedná se o anaerobní gramnegativní bacil, který je zodpovědný za změny v metabolismu síry. Produkuje virulentní faktory, které přispívají k patofyziologii ASD (Li a Zhou, 2016).

Na již zmiňovaném myším modelu ASD, navozeném prenatálním podáváním kyseliny valproové samcům, byly zjištěny zvýšené hladiny prozánětlivých markerů, zvýšený zánět, zvýšené hladiny BA a naopak snížené hladiny 5-HT společně s narušeným sociálním chováním. Na modelu ASD, kdy se vyskytovaly jak neurologické symptomy, tak i symptomy GIT, bylo testováno perorální podání *Bacteroides fragilis*. Tato léčba upravila narušenou střevní permeabilitu díky zmírnění stavu střevní dysbiózy. Tomu odpovídala snížená hladina prozánětlivých cytokinů, zlepšení funkce BBB a ústup neurologických symptomů. (Luna a Foster, 2015).

## 6.4 Schizofrenie

Jedná se o devastující neuropsychiatrické onemocnění, u kterého není přesně známa příčina vzniku, i když zde existuje řada hypotéz. Klinicky byla u schizofreniků mimo jiné potvrzena i zvýšená reaktivita imunitního systému a zesílení zánětlivé odpovědi na

různé noxy. Hyperaktivita těchto dvou procesů může tak představovat zvýšené riziko navazujících orgánových změn a metabolického syndromu (Nemani et al., 2015).

Ukázalo se, že v patofyziologii schizofrenie se může uplatnit i hypofunkce NMDA receptorů. NMDA antagonisté mohou vyvolat schizofrenii podobné symptomy, naopak NMDA agonisté tyto symptomy zmírňují a zároveň zlepšují kognitivní funkce. Předpokládá se, že kognitivní dysfunkce u pacientů se schizofrenií mohou způsobovat rozdíly v expresi BDNF. Pro správnou stimulaci synaptické plasticity prostřednictvím zvýšené exprese BDNF a NMDA receptorů je nezbytný normální vývoj mikrobiomu. Změny ve složení mikrobioty mohou negativně ovlivnit funkce zprostředkované NMDA receptory (Nemani et al., 2015).

U schizofrenních pacientů byly pozorovány ve srovnání se zdravými kontrolami zvýšené sérové hladiny prozánětlivých cytokinů. Naskytá se tak otázka existence souvislosti mezi hladinami těchto cytokinů a závažností klinických symptomů. U psychotických pacientů nacházejících se v relapsu byl zjištěn zvýšený poměr Th1/Th2 lymfocytů, to indikuje zvýšenou zánětlivou odpověď. Pokud docházelo k přiblížení tohoto poměru směrem k normálním hodnotám, byla současně pozorována pozitivní reakce na antipsychotickou léčbu. Opakovaně bylo potvrzeno, že do patofyziologie schizofrenie lze zahrnout nekontrolovatelný zánět mozkové tkáně se zvýšenou hladinou prozánětlivých cytokinů (Nemani et al., 2015).

Systémová expozice bakteriálním endotoxinům může negativně ovlivnit složení střevní mikrobioty. To může přispět k inzulínové rezistenci a obezitě. V současnosti je klinicky potvrzeno, že pacienti trpící schizofrenií mají zvýšené riziko vzniku metabolického syndromu. K tomu přispívají jednak metabolické abnormality, jednak i účinky antipsychotických léčiv, které způsobují přibývání na váze a tím podporují riziko metabolického syndromu. Změny ve střevní mikrobiotě, které ovlivňují systémový zánět, mohou způsobovat přibývání na váze. Byl proveden pokus, kdy byl potkaním samicím podáván olanzapin. U takto ošetřených zvířat došlo k výrazným změnám ve střevních bakteriálních kmenech, konkrétně ke zvýšení počtu zástupců *Firmicutes* a snížení kmeny *Bacteroidetes*. Zároveň u nich byly zvýšené hladiny systémových zánětlivých markerů (IL – 6, IL – 8, TNF –  $\alpha$ , IL - 1 $\beta$ , Nemani et al., 2015).

U schizofrenních pacientů bylo zjištěno poškození bariéry GIT. Ve studii, kde byly měřeny protilátky na *Saccharomyces cerevisiae*, což je ukazatel střevního zánětu a bakteriální translokace, byly u schizofreniků nalezeny zvýšené hladiny protilátek. Pitvou,

kteřá byla provedena u 82 pacientů, bylo pak odhaleno strukturní poškození GIT. Konkrétně u 92 % pacientů byla zjištěna colitis, u 88 % enteritis a u 50 % gastritis (Nemani et al., 2015).

Jak již bylo naznačeno, obecně je schizofrenie spojena s vyšším rizikem výskytu autoimunních onemocnění. Vysoká koincidence byla např. zaznamenána u Basedowovy choroby, celiakie a získané hemolytické anémie. Jedním z potenciálních etiopatogenetických faktorů podílejících se na vzniku či relapsech schizofrenie je výskyt autoreaktivních protilátek, jako jsou např. protilátky proti endotelu a protilátky proti hladkým svalům. Na druhé straně lze uvažovat i o spolupůsobení infekčních a stresogenních inzultů. V klinickém obrazu mohou bakteriální činitele vyvolat třeba jen nenápadně probíhající, v podstatě asymptomatické onemocnění, které následně vede k relapsům psychózy (Kuncová a Horáček, 2009; Nemani et al., 2015).

V poslední době se množí důkazy o vzájemné souvislosti schizofrenie a toxoplazmózy. S prvními epizodami schizofrenie (vlastně tedy začátkem onemocnění) často pozitivně koreluje vyšší frekvence zjištěné sérové séropozitivity na protilátky proti *Toxoplasma gondii*. Byla také zjištěna pozitivní korelace mezi hladinou IgG toxoplazmových protilátek a četností negativních psychotických příznaků. Prenatální expozice toxoplazmóze a intrauterinní toxoplazmové infekce představují závažný rizikový faktor pozdější klinické manifestace schizofrenie. Zajímavým zjištěním je pak nález přímé souvislosti protilátek proti *Toxoplasma gondii* s protilátkami proti potravním antigenům. U schizofrenních pacientů byla pozorována zvýšená citlivost imunitního systému na lepek i hovězí kasein. Tato hypersenzitivita byla potvrzena zjištěním zvýšeného titru antigliadinových protilátek. Zároveň se ukázalo, že imunitní odpověď se liší od jedinců s celiakií. U schizofrenních jedinců byly pozorovány zvýšené hladiny kaseinových protilátek, a to i u těch, kteří ještě nebyli na toto onemocnění diagnostikováni. Neznám přesný mechanismus, kterým zvýšení protilátek proti potravním antigenům zvyšuje současně i riziko schizofrenie. Jak již bylo ukázáno v předchozích kapitolách, protilátky proti potravním antigenům a zánětlivé markery GIT zvyšují střevní permeabilitu, antigeny se snadněji dostávají do systémové cirkulace a dochází ke zvýšené stimulaci imunitní odpovědi (Nemani et al., 2015).

Potenciálně se tak nabízejí další terapeutické možnosti, které by měly oproti tradičním lékům nižší frekvenci nežádoucích účinků. Využívalo by se jejich schopnosti ovlivnit mikrobiotu střev. První z možností jsou dietní zásahy. Tímto lze ovlivnit funkci

a složení střevní mikrobioty. Může dojít ke změně vrozeného i adaptivního imunitního systému. Druhou možností je použití antimikrobiálních látek. Jak je známo, pod vlivem ATB léčby dochází ke změně střevní mikrobioty. ATB mohou modulovat citlivost k autoimunitním procesům CNS. Například minocyklin, který patří do druhé generace tetracyklinů, se experimentálně používá při doplňkové léčbě schizofrenie. Jeho efekt se ukázal při léčbě negativních symptomů, a také u pacientů, kteří špatně reagovali na klasickou léčbu. Předpokládá se, že minocyklin má vedle protizánětlivých vlastností i schopnost zvýšit neurotransmisi glutamátu. Toto vše musí být ještě potvrzeno kontrolovanými klinickými studiemi. Třetí možností je použití probiotik, které bude více rozebráno v další kapitole. A poslední možností je transplantace fekální mikrobioty. V porovnání s ATB a probiotiky je to nová metoda, která je ve fázi preklinického i klinického zkoušení a má schopnost zásadního ovlivnění střevní mikrobioty (Nemani et al., 2015).

Závěrem můžeme říci, že změněný mikrobiom může být příčinou abnormalit ve vývoji mozku, imunitní regulaci a také funkcí metabolismu u schizofrenních pacientů. Je prokázáno, že změnou v mikrobiotě dochází ke strukturnímu poškození GIT, dále ke zvýšené odpovědi imunitního systému na infekční patogeny a také potravní antigeny. Pro některé pacienty může být prospěšné zahájení diety, která neobsahuje lepek a kasein. Jestli je pro tyto pacienty prospěšná léčba antimikrobiálními látkami a probiotiky, to musí být ještě potvrzeno cílenými klinickými studiemi (Nemani et al., 2015).

## **7 PSYCHOBIOTIKA**

Většina dobře tolerovaných antidepresiv se zaměřuje na cílové molekuly jako 5 – HT nebo noradrenalin (NE). Bohužel ne všichni pacienti trpící depresí dobře reagují na tyto antidepresiva. Někteří tuto léčbu odmítají. U těchto pacientů jsou známé změny HPA a s tím související zvýšené plazmatické hladiny kortizolu a CRF v mozkomíšním moku. Tyto abnormality se antidepresivní léčba snaží navrátit do původního stavu. Současně se hledají další možná východiska v terapii deprese, zvláště pak u poměrně velké skupiny non-responderů na zavedenou léčbu. Proto jsou zkoumána i psychobiotika, která mohou v budoucnu patřit do nové skupiny psychotropních léčiv (Dinan et al., 2013).



Psychobiotika jsou: „ živé organismy, které při podání v dostatečném množství, mají zdravotní přínos pro pacienty, kteří trpí psychiatrickým onemocněním“ (Dinan et al., 2013).

Tyto organismy jsou schopny produkovat různé neuroaktivní látky, které potom ovlivňují řadu fyziologických a psychických procesů. Jak bylo uvedeno výše, některé kmeny *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* produkují GABA. Bylo prokázáno, že perorální podání *Bifidobacterium infantis* u krys způsobuje zvýšené plazmatické hladiny tryptofanu, což je prekurzor 5 – HT. Jak je známo, 5 – HT má významné postavení v regulaci chování a nálad. Můžeme tedy uvažovat o tomto kmenu, jako o potenciálním antidepresivu. I další kmeny produkují velké množství neuroaktivních látek. Například *Bacillus*, *Saccharomyces* a *Escherichia* produkují NE. 5 - HT je produkován kmeny *Escherichia*, *Enterococcus*, *Candida* a *Streptococcus*, zatímco dopamin produkují *Bacillus* a *Serratia* (Dinan et al., 2013).

U GF myši se hypereaktivita HPA osy navrácí do původního stavu díky *Bifidobacterium infantis*. Tato bakterie převládá ve střevě u novorozeňat a je běžně užívaným probiotikem. Bylo prokázáno, že komenzálové ovlivňují nejen HPA osu, ale i neurotransmitery, které jsou důležité v etiologii deprese. Byl proveden pokus na dospělých potkanech, odebraných od matky. Těmto potkanům bylo podáváno probiotikum *Bifidobacterium infantis* nebo citalopram patřící do SSRI. U těchto zvířat byl patrný snížený obsah NE v mozku, zvýšené uvolňování prozánětlivého IL – 6 a změněné chování. Díky podání probiotika došlo k normalizaci hladin NE, obnovení normální imunitní reakce i chování (Dinan et al., 2013).

S depresí a úzkostí je spojena porucha osy mozek – střevo IBS. Byla provedena placebem kontrolovaná studie. Srovnávala se účinnost *Bifidobacterium infantis* a *Lactobacillus salivarius*, kdy podáním *Bifidobacterium infantis* nastalo výrazné zlepšení, kdežto po podání *Lactobacillus salivarius* došlo jen k malému ovlivnění symptomů. V další studii byla dobrovolníkům po dobu 30 dnů podávána kombinace *Lactobacillus helveticus* R0052 a *Bifidobacterium longum* nebo placebo. Zjistilo se, že denním podáváním probiotik se u dobrovolníků snížila úzkost, také hladiny hormonu kortizolu v moči byly sníženy. Další klinickou studií bylo zjištěno, že konzumací jogurtu, který obsahuje probiotika, dochází ke zlepšení nálady. Zdravým subjektům s průměrným věkem 61, 8 let byl po 3 týdny podáván mléčný nápoj obsahující probiotika. Bylo zjištěno, že po podání probiotik se cítí spíše šťastně než depresivně. V jiné studii se zkoumala účinnost kmene

*Lactobacillus casei* Shirota u pacientů trpících chronickým únavovým syndromem, kdy jim byl třikrát denně podáván tento kmen nebo placebo. U skupiny s probiotikem došlo ve srovnání s placebem ke snížení úzkosti. Bohužel ne všechna dosud testovaná probiotika mají stejné vlastnosti a většina z dosud testovaných neprokázala přesvědčivou schopnost ovlivňovat chování a úzkost (Dinan et al., 2013).

## 8 ZÁVĚR

Tato problematika je relativně nová. Vztah mezi střevní mikrobiotou a CNS se začal studovat až v tomto století (po roce 2000). Detailnější studie mikrobiomu pocházejí až z devadesátých let minulého století. V dostupných odborných publikacích převažují preklinické studie prováděné na laboratorních zvířatech, zejména myších a potkanech. Problémem je proto přenos informací získaných v těchto studiích a aplikovatelnost do klinické praxe. Velice těžko, pokud vůbec, se u myší rozlišuje stav úzkosti od deprese. Z preklinických studií je poměrně dost důkazů o tom, že probiotika mohou ovlivňovat chování u myší a potkanů. Bohužel chybí více odpovídajících klinických studií, které by poskytly důkazy o účinnosti a významu probiotik při poruchách nálady. Doufám, že v budoucnu bude provedeno více kontrolovaných klinických studií zaměřených na tuto problematiku umožňujících např. doplnění léčebné strategie u depresí podáváním vhodných prebiotik, které jsou proti klasickým antidepresivům našemu tělu přirozené.

## 9 PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK

5 – HT	serotonin
5 – HTP	5 – hydroxytryptofan
AAAD	dekarboxyláza aromatických aminokyselin
Ach	acetylcholin
ACTH	adrenokortikotropní hormon
AMPs	antimikrobiální peptidy
ASD	porucha autistického spektra
ATB	antibiotika
ATP	adenosintrifosfát
BA	kyselina máselná
BBB	hematoencefalická bariéra
BDNF	mozkový neutropní faktor
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CD 8+	cytotoxické T – lymfocyty
CD4+	pomocné T – lymfocyty
CNS	centrální nervový systém
CRF	kortikoliberin
DA	dopamin
EC	enterochromafinní
EE	enteroendokrinní
ENS	enterický nervový systém
Fiaf	půstem indukovaný tukový faktor
GABA	gamma – aminomáselná kyselina
GALT	střevní lymfoidní tkáň
GF	bezmikrobní
HPA	osa hypotalamus – hypofýza – nadledviny
IBS	syndrom dráždivého tračníku
IDO	indolamin – 2, 3 – dioxygenáza
IgA	imunoglobulin A
IL	interleukin

LPS	lipopolysacharid
MALT	slizniční lymfoidní tkáň
mRNA	mediátorová RNA
NE	norepinefrin
NMDA	N – methyl – D – aspartát
PAMPs	molekuly spojené s patogeny
PPA	kyselina propionová
PRRs	receptory rozpoznávající molekulové struktury
SCFAs	mastné kyseliny s krátkým řetězcem
sIgA	sekreční imunoglobulin A
SPF	bez specifických patogenů
SSRI	selektivní inhibitory zpětného příjmu serotoninu
TDO	tryptofan – 2, 3 – dioxygenáza
TeNT	tetanový neurotoxin
TLRs	transmembránové Toll – like receptory
TNF $\alpha$	tumor nekrotizující faktor $\alpha$
TPH	tryptofan – hydroxyláza
Treg	regulační T – lymfocyty

## 10 LITERÁRNÍ ZDROJE

BERCIK, DENOUE et al. (2011) cit.: MARQUES T. M., CRYAN J. F., SHANAHAN F., FITZGERALD G. F., ROSS R. P., DINAN T. G., STANTON C., 2014: Gut microbiota modulation and implications for host health: Dietary strategies to influence the gut–brain axis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, s. 239–247.

BERER K. a KRISHNAMOORTHY G., 2014: Microbial view of central nervous system autoimmunity. *FEBS Letters*, 588: s. 4207–4213.

BOHORQUEZ et al. (2015) cit.: EL AIDYS., DINAN T. G., CRYAN J. F., 2015: Gut Microbiota: The Conductor in the Orchestra of Immune–Neuroendocrine Communication. *Clinical Therapeutics*, 37: s. 954–967.

BRAVO J. A., JULIO-PIEPER M., FORSYTHE P., KUNZE W., DINAN T. G., BIENENSTOCK J., CRYAN J. F., 2012: Communication between gastrointestinal bacteria and the nervous system. *Current Opinion in Pharmacology*, 12: s. 667–672.

COLLINS S. M., BERCIK P., 2009: The Relationship Between Intestinal Microbiota and the Central Nervous System in Normal Gastrointestinal Function and Disease. *Gastroenterology*, 136: s. 2003–2014.

DINAN T. G., CRYAN J. F., 2012: Regulation of the stress response by the gut microbiota: Implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*, 37: s. 1369–1378.

DINAN T. G., STANTON C., CRYAN J. F., 2013: Psychobiotics: A Novel Class of Psychotropic. *Biological Psychiatry*, 74: s. 720–726.

EL AIDYS., DINAN T. G., CRYAN J. F., 2015: Gut Microbiota: The Conductor in the Orchestra of Immune - Neuroendocrine Communication. *Clinical Therapeutics*, 37: s. 954–967.

FOSTER J. A., McVEY NEUFELD K. - A., 2013: Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36, s. 305–312.

FRIČ P., 2010: Střevní mikroflóra, gastrointestinální ekosystém a probiotika. *Medicina pro praxi*, 7: s. 408–414.

HANSEN et al. (2012) cit.: ICAZA-CHÁVEZ M. E., 2013: Gut microbiota in health and disease. *Revista de Gastroenterología de México*, 78: s. 240–248.

HEIJTZ et al. (2011) cit.: BRAVO J. A., JULIO-PIEPER M., FORSYTHE P., KUNZE W., DINAN T. G., BIENENSTOCK J., CRYAN J. F., 2012: Communication between gastrointestinal bacteria and the nervous system. *Current Opinion in Pharmacology*, 12: s. 667–672.

HEIJTZ et al. (2011), CLARKE et al. (2012) cit.: MARQUES T. M., CRYAN J. F., SHANAHAN F., FITZGERALD G. F., ROSS R. P., DINAN T. G., STANTON C., 2014: Gut microbiota modulation and implications for host health: Dietary strategies to influence the gut–brain axis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22: s. 239–247.

HOSOI et al. (2000) cit.: DINAN T. G., CRYAN J. F., 2012: Regulation of the stress response by the gut microbiota: Implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*, 37: s. 1369–1378.

ICAZA-CHÁVEZ M. E., 2013: Gut microbiota in health and disease. *Revista de Gastroenterología de México*, 78: s. 240–248.

KELLY, J. R., CLARKE G., CRYAN J. F., DINAN T. G., 2016: Brain - gut-microbiota axis: challenges for translation in psychiatry. *Annals of Epidemiology*, 26 (v tisku)

KREJSEK J., KUDLOVÁ M., KOLÁČKOVÁ M., NOVOSAD J., 2007: Nutrice, probiotika a imunitní systém, II. část: nutrice, přirozená slizniční mikroflóra a individuální imunitní reaktivita. *Pediatric pro praxi*, 3: s. 156–162.

KUNCOVÁ A., HORÁČEK J., 2009: Role imunitního systému v patofyziologii schizofrenie. *Psychiatrie*, 13: s. 169–174.

LI Q., ZHOU J. - M., 2016: The microbiota–gut–brain axis and its potential therapeutic role in autism spectrum disorder. *Neuroscience*, 324: s. 131–139.

LUNA R. A., FOSTER J. A., 2015: Gut brain axis: diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression. *Current Opinion in Biotechnology*, 32: s. 35–41.

MAES et al. (2008) cit.: DINAN T. G., CRYAN J. F., 2012: Regulation of the stress response by the gut microbiota: Implications for psychoneuroendocrinology. *Psychoneuroendocrinology*, 37: s. 1369–1378.

MARQUES T. M., CRYAN J. F., SHANAHAN F., FITZGERALD G. F., ROSS R. P., DINAN T. G., STANTON C., 2014: Gut microbiota modulation and implications for host health: Dietary strategies to influence the gut–brain axis. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22, s. 239–247.

NEMANI K., HOSSEINI GHOMI R., MCCORMICK B., FAN X., 2015: Schizophrenia and the gut–brain axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 56: s. 155–160.

O'MAHONY S. M., CLARKE G., BORRE Y. E., DINAN T. G., CRYAN J. F., 2015: Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, 277: s. 32–48.

ORIACH C. S., ROBERTSON R. C., STANTON C., CRYAN J. F., DINAN T. G., 2016: Food for thought: The role of nutrition in the microbiota–gut–brain axis. *Clinical Nutrition Experimental*, 5: 1–14.



POKORNÝ J., MOUREK J., 2014: Mechanismy interakce trávicího a centrálního nervového systému ve vztahu k úzkostným poruchám. *Česká a slovenská psychiatrie*, 110: s. 333–337.

STRACHAN (1989) cit.: ICAZA-CHÁVEZ M. E., 2013: Gut microbiota in health and disease. *Revista de Gastroenterología de México*, 78: s. 240–248.

TLÁSKALOVÁ - HOGENOVÁ H., MĚSTECKÝ J., 2012: Účast slizničního imunitního systému a komensálních bakterií v alergii. *Alergie*, 14: s. 124–125.

VULCHANOVA L., CASEY M. A., CRABB G. W., KENNEDY W. R., BROWN D. R., 2007: Anatomical evidence for enteric neuroimmune interactions in Peyer's patches. *Journal of Neuroimmunology*, 185: 64–74.

WANG et al. (2012) cit.: EL AIDYS., DINAN T. G., CRYAN J. F., 2015: Gut Microbiota: The Conductor in the Orchestra of Immune - Neuroendocrine Communication. *Clinical Therapeutics*, 37: s. 954–967.

WANG Y., KASPER L. H., 2014: The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain, Behavior, and Immunity*, 38:s. 1–12.

ZÁVADA F., 2010: Gastrointestinální imunitní systém. *Medicina pro praxi*, 7: s. 268–269.

[wikimedia.org/wiki/File: Tryptophan\\_metabolism.org](http://wikimedia.org/wiki/File:Tryptophan_metabolism.org) [cit. 2016-02-05]